ZUR ANALYTIK UND STABILISIERUNG EINIGER EMETINHALTIGER ZUBEREITUNGEN

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Erberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Michael Schmidt
aus Tübingen

1983

ZUR
ANALYTIK UND STABILISIERUNG EINIGER EMETINHALTIGER ZUBEREITUNGEN

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Erberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Michael Schmidt
aus Tübingen

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 27.Juni 1983
Dekan: Prof. Dr. J.Strähle
1. Berichterstatter: Prof. Dr. E.Graf
2. Berichterstatter: Prof. Dr. E.Reinhard

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (0 74 72) 2 21 45

Meiner Frau gewidmet

Die vorliegende Arbeit wurde Anfang
April 1981 unter Anleitung von
Herrn Professor Dr. E.Graf am
Pharmazeutischen Institut der
Eberhard-Karls-Universität Tübingen
begonnen und im Juni 1983
abgeschlossen.

Für die wertvollen Anregungen und
für die Überlassung dieses Themas
bedanke ich mich bei
Herrn Professor Dr. E.Graf
besonders herzlich.

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

Einleitung 1

Allgemeiner Teil 3
1.Kapitel

Geschichte der Ipecacuanha 3
Die Droge und ihre Herkunft 4
Inhaltsstoffe 6
Anwendung und Pharmakologie 10
A. Extrakt und Tinktur 10
B. Emetin 11
Toxizität 12
Stabilität der Alkaloide 14
Literaturübersicht 14
Schema für thermische Zersetzung 19
Schema für photochemische Zersetzung 20
Formeln der Zersetzungsprodukte 21
Gehaltsbestimmungsmethoden 25

2.Kapitel

Fluorimetrische Emetin-Bestimmung
in Tinkturen und Extrakten 27
Grundlagen der Fluorimetrie 27
Aufbau des Fluorimeters 30
Prinzip der Analyse 31
Eichgerade 32
Bestimmung des Emetins 33
Bestimmung des Cephaelins 34
Diskussion der Methode 34
Haltbarkeitsprüfungen für Emetin in
Tinctura Ipecacuanhae 36

3.Kapitel

Bestimmung durch Ausschaben der DC-Flecke
und UV-Spektroskopie (Methode SCHUIJT) 38
Diskussion 40
Optimierung der Fließmittel 41
Ergebnisse 42

4.Kapitel

Fluorimetrische Bestimmung des Emetin-und
des Tetradehydroemetin-Gehaltes in
verschiedenen Ipecacuanha-Extrakten 43
Methode 43

Gerät 43
Verdünnung 44
Dünnschichtchromatographie 45
DC-Bild der Trennung 46
Fluorimetrische Bestimmung 46
Ergebnisse 48
Stabilisierung eines Fluidextraktes 51
Stabilisierungsmaßnahmen 51
Ergebnisse, Tabelle u. Graphik 52
k-Werte, T-50 (90) %-Zeiten 53
Aktivierungsenergien 54
Diskussion der Ergebnisse 55

5.Kapitel

Fluorimetrische Bestimmung des Emetin- und des TD-Emetingehaltes in verschiedenen Ipecacuanha-Tinkturen 56
Ergebnisse 58
Lagerversuche und Stabilisierung 59
Ergenisse, Tabelle u. Graphik 59
Zeitliche Abnahme unter verschiedenen Lagerbedingungen 61
k-Werte und T 50 (90) %-Zeiten 63
Aktivierungsenergien 64
Diskussion der Ergebnisse 65

6.Kapitel

Fluorimetrische Untersuchung emetinhaltiger Hustentropfen 66
pH-Vergleich verschiedener Chargen 66
DC-Bild der Trennung 68
Ergebnisse, Tabelle u. Graphik 69
Lagerversuche und Stabilisierung 69
Ergebnisse, Tabelle mit k-Werten 71
Ergebnisse, graphisch 72
Aktivierungsenergien 72
Diskussion 73

7.Kapitel

Untersuchung verschiedener Ipecacuanha-Emetica aus Arztpraxen 74
Zusammensetzung 74
Ergebnisse, Tabelle u. Graphik 75
Diskussion 76

Bemerkungen zu den Lagerversuchen 77
A.Allgemein (gesetzliche Anforderungen).. 78
B.Berechnungen (Ableitung der Formeln)... 79

Zusammenfassung 82

Literaturverzeichnis

Anhang: Basic-Programm für APPLE-II-europlus
zur Berechnung der Stabilitätsparameter

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen:

E	Emetin
C	Cephaelin
TD-E	Tetradehydroemetin
O-MP	O-Methylpsychotrin
GA	Gesamtalkaloid
RT	Raumtemperatur
K	Kühlschrank (8°C)
k	Reaktionsgeschwindigkeitskonstante
T 50%	Zeit, nach der 50 % der Ausgangs-konzentration noch unzersetzt sind
T 90%	Zeit, nach der 90 % der Ausgangs-Konzentration noch unzersetzt sind

EINLEITUNG

NÄGLER untersuchte in seiner Dissertation 1981 (1) das Codein im Antitussivum Ipalat cum Codein-Tropfen (Firma PFLEGER, Bamberg) auf seine Stabilität und konnte zeigen, daß die Bildung des Codein-N-oxids durch die Anwesenheit zweier aetherischer Öle (Anis- und Fenchelöl), sowie des schwermetall-haltigen Ipecacuanha-Extraktes (Ergb. 6)(2) gefördert wird. Dadurch vermindert sich die Stabilität des Wirkstoffes Codein.
Es ist nun interessant, zu erfahren, wie es mit der Stabilität flüssiger Zubereitungen aus Ipecacuanha (Extrakt Ergb. 6 oder Tinktur DAB 8 (3)) im allgemeinen und auch in diesem speziellen Antitussivum bestellt ist.

Das Rezept lautet:

Rp.	Extract. Ipecacuanhae fld.	4.00 g
	Ephedrin. hydrochloric.	1.00 g
	Codeinum	0.75 g
	Oleum Anisi	0.24 g
	Oleum Foeniculi	0.16 g
	Spiritus 95 %	44.40 g
	Aqua purificata	ad 100.00 g

Dafür war eine Analytik auszuarbeiten, die es erlaubt, die Emetinmengen stoffspezifisch zu erfassen neben den anderen Rezepturkomponenten, Begleitalkaloiden und Zersetzungsprodukten. Die einfache Erfassung der Gesamtalkaloide (Arzneibuch !) genügt nicht, da sie zur Erkennung von Zersetzungsvorgängen zu unspezifisch ist.

Erst die spezifische Gehaltsbestimmung erlaubt Stabilitätsuntersuchungen und damit auch das Erarbeiten von Stabilisierungsmaßnahmen zur Erfüllung der gesetzlichen Anforderungen an die Qualität. Daneben bieten sich Möglichkeiten zur Untersuchung der Interaktionen zwischen der Substanz und Umweltfaktoren (Wasser, pH, Metalle, Sauerstoff, Zusätze). Sinkt die Menge an Wirkstoff ab, verliert die Zubereitung an therapeutischer Aktivität; Es können aber auch Produkte mit eigener biologischer Aktivität entstehen, darunter solche mit höherer Toxizität.

ALLGEMEINER TEIL

1. Kapitel

Zur Geschichte der Ipecacuanha.

Die Drogenbezeichnung "Ipecacuanha" stammt nach MARTIUS aus dem Wort Pe-cáa-goene der brasilianischen Tupisprache. Es soll etwa "brecherregendes Kraut, das am Wege wächst" bedeuten. Mit der vorgestellten Verkleinerungssilbe "i" versehen, als I-pe-cáa-goene, bezog es sich auf unsere Radix Ipecacuanhae. (Zit. nach HUMMEL, Herkunft und Geschichte der pflanzlichen Drogen) (4).
Die Pflanze heißt in Brasilien heute "Poaya". Erstmals wurde sie um das Jahr 1570 von dem damals in Brasilien weilenden portugiesischen Mönch Michael Tristram erwähnt. Etwa ein Jahrhundert später kam sie nach Europa, wo sie sich nach und nach einen festen Platz im Drogenschatz eroberte; 1672 kam die erste Ipecacuanha in eine Pariser Apotheke,- hier wurde sie auch zuerst von dem Arzte Helvetius angewandt und bekannt gemacht. In Deutschland trat neben anderen auch Leibniz für Ipecacuanha ein und seit Beginn des 18. Jahrhunderts fand sie allgemeinere Anwendung (5).

Die Droge und ihre Herkunft.

Als Droge werden die getrockneten unterirdischen Organe, also Wurzeln und Rhizome, von Vertretern der Gattung Cephaelis, (Rubiaceae, Unterfamilie Coffeoideae) verwendet.

Im wesentlichen unterscheidet der Handel 3 Sorten von Radix Ipecacuanhae:
a) die Rio-Ipecacuanha,
b) die Cartagena-Ipecacuanha,
c) die Johore-Ipecacuanha.

zu a)
Uragoga ipecacuanha BAILL. = Cephaelis ipecac. (Brotero) A.Richard.
Diese Ware weist den höchsten Emetingehalt auf; das HAB 1 (6) läßt daher auch nur diese Sorte zu. Die Stammpflanze kommt als 20 - 40 cm hoher, immergrüner Strauch in den feuchtheißen Wäldern der brasilianischen Provinzen Mato Grosso und Minas Gerais in großen Beständen vor. Nach dem früheren Hauptausfuhrhafen wird die Droge im Handel als "Rio-Ipecacuanha" bezeichnet. Die Wurzeln werden von den Sammlern (= Poayeros) das

ganze Jahr über, mit Ausnahme der Regenzeit, gegraben. Drei- bis vierjährige Exemplare sollen die alkaloidreichste Droge liefern.

zu b)

In Deutschland (DAB 8) und auch in anderen Arzneibüchern (z.B. USP XIX) sind neben a) auch die Wurzeln von Uragoga granatensis BAILL. = Cephaelis acuminata KARSTEN als Droge zugelassen.
Diese Pflanze wächst in Mittelamerika, vor allem in Nord- und Zentralkolumbien, in großen Mengen. Nach dem früheren Hauptausfuhrhafen wird die Droge häufig als "Cartagena-Ipecacuanha" bezeichnet. Der Gesamtalkaloidgehalt der Cartagena-Droge (Hauptalkaloid = Cephaelin) liegt in der Regel etwas höher als bei der Rio-Droge (Hauptalkaloid = Emetin). Für die therapeutische Verwendung ist jedoch weniger der Cephaelin- als der Emetin-Anteil von Interesse.
Im DAB 8 (3) wird die wertvollere Cephaelis ipecac. erst an zweiter Stelle genannt, da die Rio-Ware im deutschen Drogenhandel seit dem 2. Weltkrieg kaum noch erhältlich ist.

zu c)

Die Johore-Ipecacuanha, eine Kulturdroge von Cephaelis ipecacuanha aus dem Staate Selangor (Johore, bei

Singapur), ist der Rio-Ware ebenbürtig.

Interessant ist die Feststellung, daß das Alkaloid Emetin außer in anderen Rubiaceen (Borreira-Arten, (9)) auch in anderen Pflanzenfamilien gefunden wurde; hierzu 2 Literaturstellen: Araliaceae (7) und Alangiaceae (8).

Die Inhaltsstoffe

Der Alkaloidgehalt der Rio-Ipecacuanha liegt zumeist zwischen 2 und 3 %. Die Alkaloide sind zum größten Teil in den peripheren Rindenzellen unter der Korkschicht abgelagert.

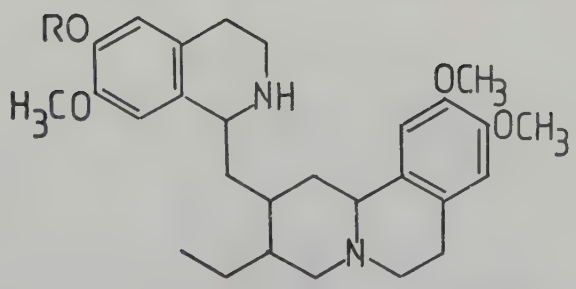
Das (-)-Emetin ist das Hauptalkaloid. Seine inzwischen in allen Einzelheiten sichergestellte Konstitution wurde 1948 von ROBINSON (10) aufgrund biogenetischer Vorstellungen postuliert.

Unter den Nebenalkaloiden herrscht das Cephaelin stark vor. Daneben sind die chemisch dem Emetin sehr nahestehenden Begleitalkaloide Psychotrin, O-Methylpsychotrin, Emetamin und einige weitere Spurenalkaloide zu nennen. Dem 1959 von BATTERSBY et al. (11) isolierten Protoemetin kommt wohl eine besondere biogenetische Bedeutung zu, da es als

Bindeglied zwischen den Benzylisochinolin-, den Protoberberin- und den Ipecacuanha-Alkaloiden aufzufassen ist.

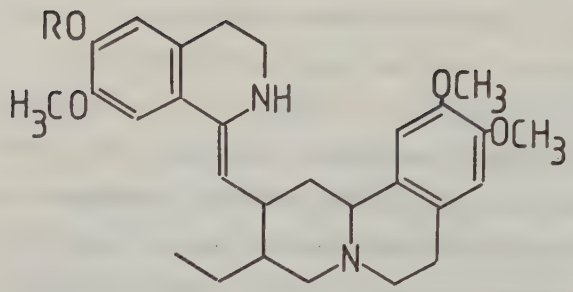
Außer den Alkaloiden enthält die Droge nicht näher gekennzeichnete Glykoside (Ipecosid, Ipecacuanhin), saure Saponine, gerbstoffartige Verbindungen, sehr wenig aetherisches und fettes Öl, Wachse, Harze, Pflanzensäuren, Cholin und 30 - 40 % Stärke.

Formeln der Alkaloide:



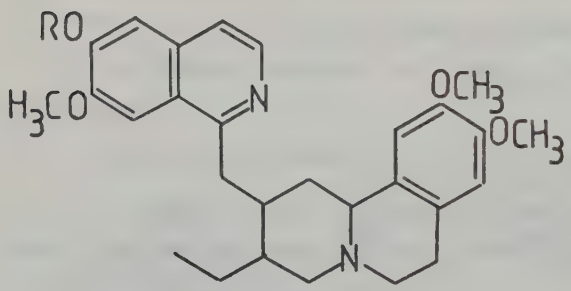
R = H Cephaelin

R = CH_3 Emetin

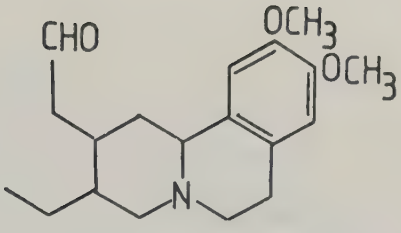


R = H Psychotrin

R = CH_3 O-Methylpsychotrin



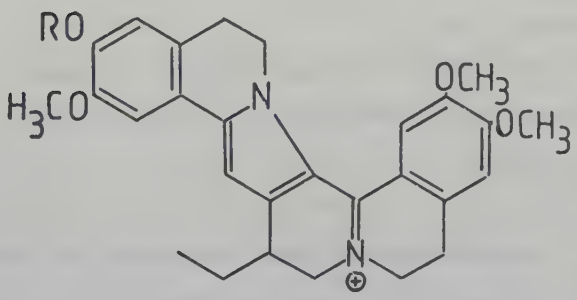
R = CH_3 Emetamin



R = CH_3 Protoemetin

Prüfung auf Identität (DAB 8):

Emetin wird in salzsaurer Lösung durch Oxidationsmittel zu orangerotem Rubremetinchlorid dehydriert:



Rubremetiniumsalz

Anwendung und Pharmakologie.

A. Ipecacuanha-Extrakt und Tinktur

Einsatz als Expectorans: die Wirkung beruht auf den beiden Hauptalkaloiden Emetin und Cephaelin. Diese erregen sensible Nervenendigungen der Magenschleimhaut. Dadurch wird reflektorisch über das zentrale Vagusgebiet die Bronchialsekretion erhöht und der Abtransport des Sekrets durch Anregung der Flimmerbewegungen der Zellen der Bronchialschleimhaut beschleunigt.
Dosierung:
Droge 0.025 g (ca. 10 g des 0.25 %igen Infuses),
Tinktur 0.25 g (15 Tropfen),
Extrakt 0.05 g

Einsatz als Emetikum: in hohen Dosen löst die Droge nach dem gleichen Wirkungsmechanismus Übelkeit und Erbrechen aus.
Folgende Rezeptur wird z.B. bei Kindern zum Auslösen von Erbrechen bei Vergiftungen eingesetzt:

Rp. Extr. Ipecac. fld. 7.0
Glyceroli 10.0
Sirup. simpl. ad 100.0

Dosierung: q.s.,- bis Erfolg eintritt.

B. Emetin

1. als Expectorans
Dosierung: 0.5 mg mehrmals täglich,-
rektal (Suppositorien) 0.5 mg.

2. Bei Amöbenruhr. Die Substanz wirkt spezifisch auf die vegetativen Formen von Entamoeba histolytica. Bei den hier erforderlichen hohen Dosen können Nebenwirkungen auftreten: Durchfall, Erbrechen, im Extremfall Kreislaufkollaps und Atemlähmung.
Dosierung: i.m. Injektion 0.02 - 0.04 g 1-2 mal/die oder 0.08 g 1 mal/die; bei Leberabszessen evtl. langsam i.v.

Verwendet werden heute das Emetin-Bismutjodid und das 2-Dehydro-Emetin. Zur Pharmakologie dieser Substanzen

s. (12).

3. In neuester Zeit wurde auch der cytostatische Effekt des Emetins beschrieben:(13).

Toxizität:

Nach Arbeiten von FISCHL & SCHLOSSBERGER (1934), GOODMAN & GILMAN (1970), sowie CLARKE (1971) ist Cephaelin gegenüber Emetin von doppelter Toxizität. Emetin wird langsam ausgeschieden und führt zur Akkumulation im Körper. Daher soll es auch nicht länger als 10 Tage verabreicht werden. Es wirkt cardiotoxisch und inhibiert die Proteinsynthese.
PYMAN untersuchte das als Zersetzungsprodukt von Emetin auch in vivo auftretende
3,4-Dihydro-6,7-dimethoxyisochinolin und fand neben Blutdrucksenkung und Schwächung der Herzfunktion auch krampfauslösende Wirkung.
JEPPS untersuchte O-Methylpsychotrin. Orale Gabe dieser Substanz zeigte keinen therapeutischen Effekt bei Amöbenruhr,- dafür auch keine toxischen Effekte.

LIETMANN fand, daß O-MP in vitro die Proteinbiosynthese hemmt, jedoch benötigt man im Vergleich zu Emetin viel höhere Dosen für die gleiche Wirkung.

Literatur:

zitiert bei: SCHUIJT,C. (14).

Stabilität der Alkaloide

Literaturübersicht.

Aus der älteren Literatur (ab ca. 1920) kommen recht widersprüchliche Aussagen über die Stabilität der Alkaloide. Dieser Widerspruch ist durch die Verschiedenartigkeit der Gehaltsbestimmungen erklärbar. Da die Alkaloide chemisch eng miteinander verwandt sind, benötigt man spezifische Untersuchungsmethoden,- je unspezifischer die Gehaltsbestimmung ist, desto mehr überwiegt die Behauptung, die Zubereitungen seien stabil.
BÜCHI (15) erkannte zwar einige Unregelmäßigkeiten (- z.B. die Abhängigkeit der Stabilität vom pH und von der Temperatur), zog daraus aber leider keine Konsequenzen. Im Gegenteil: er bestritt sogar vehement Arbeiten anderer Autoren (vor allem BAUER u. HEBER (16)), die schon damals von Stabilitäts-und Gehaltseinbußen sprachen, wobei sie diese auf das Eindampfen im Vakuum bei der Gehaltsbestimmung zurückführten.
SCHIRM (17) beobachtete nach einjähriger Lagerung einer von ihm (nach einem eigenen Verfahren) hergestellten Tinktur einen Alkaloidverlust von (zit.:) "nur 10 %".
BAYRAKTAR-ALPMEN (18) untersuchte die Stabilität von

Emetin-Injektionslösungen mit Hilfe der DC. In den bei Raumtemperatur, bei 8°C, bei 37°C und unter Lichteinfluß gelagerten Proben fand er als Zersetzungsprodukte des Emetins neben O-Methylpsychotrin und Emetamin auch Psychotrin und Cephaelin. SCHUIJT et al. (14), die ebenfalls Emetin-Injektionen untersuchten, bezweifeln die Anwesenheit von Cephaelin und sehen hier eher eine Verunreinigung des Emetins. Interessant ist die Feststellung, daß ein pH-Anstieg den Zersetzungsgrad erhöhte. BAYRAKTAR-ALPMEN gibt als Schlußfolgerung einen Lagerungshinweis: Emetin-HCl-Lösungen sollten auf pH 3 eingestellt sein und nicht länger als 6 Monate aufbewahrt werden.

LOWDELL (1946) (19) entwickelte eine neue Gehaltsbestimmungsmethode für Emetin, weil er aus den Ergebnissen von EVERS u. SMITH (20) wußte, daß das Abdampfen der Lösungsmittel (Diethylether und Chloroform) und das Trocknen bis zur Gewichtskonstanz der Stabilität des Emetins sehr schadeten. Er beschrieb ein ether-unlösliches Zersetzungsprodukt, das bei Lagerung etherischer Emetin-Lösungen im Sonnenlicht entstand,- vermutlich Rubremetin.

1951 beschrieben HAZLETT u. McEWEN (21) diverse Dehydrierungsprodukte des Emetins.

1956 zeigten AUTERHOFF u. DIETZ (22), daß

O-Methylpsychotrin als Zersetzungsprodukt von Emetin auftritt.
AUTERHOFF u. MERZ (23) gaben 1958 den Hinweis, daß Cephaelin-Lösungen durch Oxidation des C. zum Psychotrin schnell zersetzt werden. Emetin sei ständig mit O-MP verunreinigt (AUTERHOFF u. MOLL, 1958) (24), aus Emetin bildet sich O-MP (AUTERHOFF u. JACOBI, 1961) (25).
In einem Vortrag (26) wies AUTERHOFF 1958 darauf hin, daß O-MP ein Oxidationsprodukt des Emetins ist, das sich bereits beim feinen Pulverisieren der Droge (vor der Extraktion) bilden könne. Der Zusatz von Basen zu flüssigen Ipecacuanha-Zubereitungen sei im Interesse der Stabilität zu vermeiden.

Aus dem Jahre 1958 stammen auch die Erkenntnisse von HOFSTRA u. REKKER (27), daß Emetin-Injektionslösungen durch Sterilisation im Autoklaven oder durch Heißluft zersetzt werden können, und daß Kochen und UV-Licht in Lösungen Zersetzungsprodukte erzeugen. KAISERs Pharmazeutisches Taschenbuch (28) empfiehlt für die sterile Verarbeitung von Emetin für Parenteralia die Sterilfiltration, bzw. aseptisches Arbeiten, weil Emetin eine thermolabile Substanz ist.
MACHOVICOVA u. PARRAK (29) stellten 1964 mit Hilfe der PC fest, daß die Stabilität einer

E-HCl-Injektionslösung mit der Zeit abnimmt. Sie fanden verschiedene Zersetzungsprodukte, darunter O-MP, Psychotrin, Cephaelin und 2 nicht-identifizierte Produkte.
STAWOWCZYK (1965) (30) lagerte 18 Monate lang einen 0.1 %igen Ipecacuanha-Extrakt bei Raumtemperatur in dunklen Gläsern und fand keine (!) Qualitätsveränderung, weder im PC-Bild, noch im Gehalt.
NACKEN et al. (31) warnten 1970 vor der Zersetzung der Alkaloide bei Säure-und Alkalieinfluß.
Im Lehrbuch "Arzneiformenlehre und kleines pharmazeutisches Praktikum, Einführung und Anleitung für Tierärzte" von Rössner u. Nußstein (1976) (32) findet man die Angabe eines 21 %igen Gehaltsverlustes einer Ipecacuanha-Tinktur nach einjähriger Lagerung ohne Lichtschutz.

SCHUIJT (14) untersuchte 1977 systematisch den Einfluß von Lagertemperatur, Licht und Schwermetallen auf E-Injektionslösungen und analysierte sämtliche auftretenden Zersetzungsprodukte. Den Hinweis auf Zersetzung des Hauptalkaloids gab ihm die DC-Kontrolle des Inhaltes sterilisierter Emetinampullen.
Auch das Zentrallaboratorium der Deutschen Apotheker (Eschborn) setzte sich (im Auftrag der Europäischen Arzneibuchkommission) mit der Stabilität flüssiger

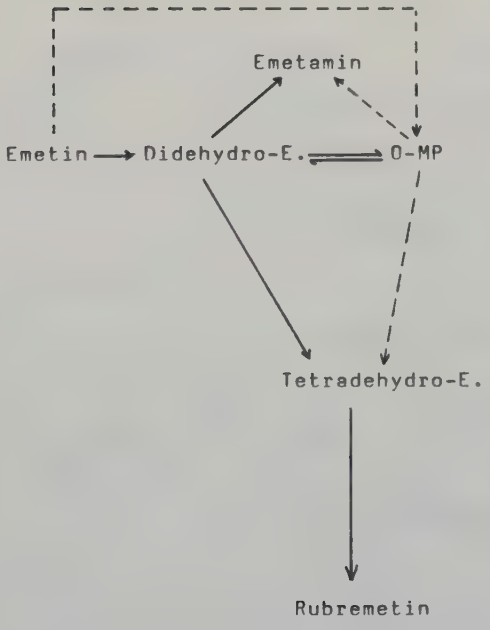
Ipecacuanha-Zubereitungen (Extrakt und Tinktur) auseinander. Nach der Mitteilung des ZL (1981) an die Kommission (33) zeigt sich bei den über 3 Jahre gelagerten Tinkturen keine Veränderung des Gesamtalkaloidgehaltes und auch im DC-Bild seien keine Zersetzungsprodukte nachweisbar; das gelte auch für die Vergleichslösungen der Reinalkaloide (33).
Untersuchungen von PESEZ (WHO,1981) (34) zeigten, daß Emetin zu den zersetzlichen Substanzen gerechnet werden muß: 30-tägige Lagerung von Emetin-HCl-Lösungen bei 50° C und 100 % relativer Feuchte brachte einen Zersetzungsgrad von 13 % mit sich.
Interessant war in diesem Zusammenhang auch der Hinweis eines Tübinger Kinderarztes bei einem Vortrag über Vergiftungen im Kindesalter, daß die Gabe eines Ipecac-Emetikums (Rezeptur s. unten) manchmal ohne Wirkung sei, was evtl. auf ein Absinken des Alkaloidgehaltes im Laufe der Lagerung oder die Verwendung eines minderwertigen Fluidextraktes in der Apotheke (bei der Herstellung) zurückzuführen sei. Aus diesem Grunde verwende er diese Rezeptur nach der Zubereitung nur 1 Jahr lang.

Ipecacuanha-Emetikum:

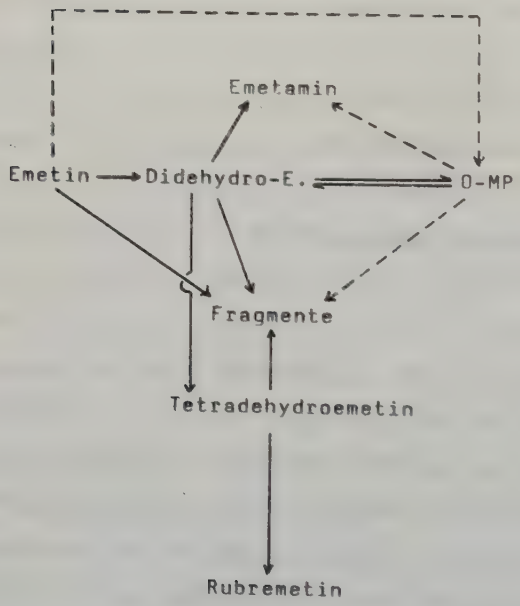
Rezept S.6

Aufgrund seiner Beobachtungen konnte SCHUIJT (14) zwei Zersetzungsschemata für Emetin entwickeln:

a) für thermische Belastung

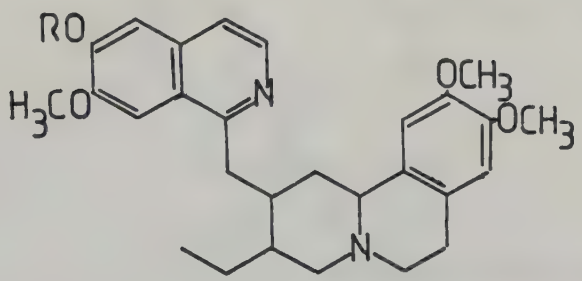


b) für photochemische Zersetzung

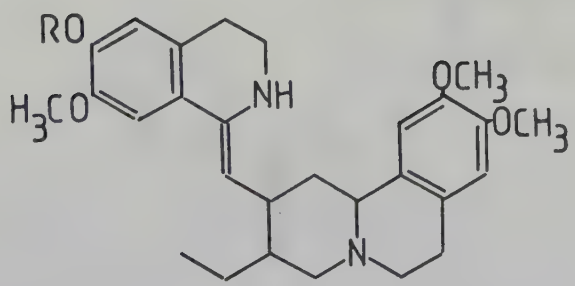


Ohne die Anwesenheit von Sauerstoff findet keine thermische Zersetzung statt. Bei photochemischer Belastung erhält man Oxidationsprodukte und daneben Fragmente. Bei thermischer Belastung erhält man dagegen nur Oxidationsprodukte.

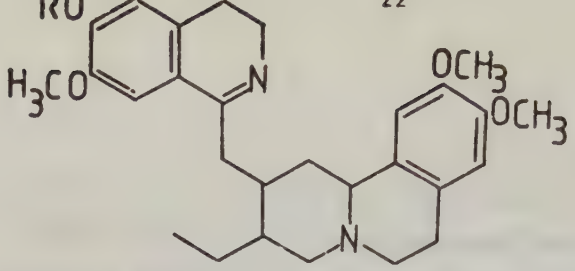
Formeln der Zersetzungsprodukte des Emetins:



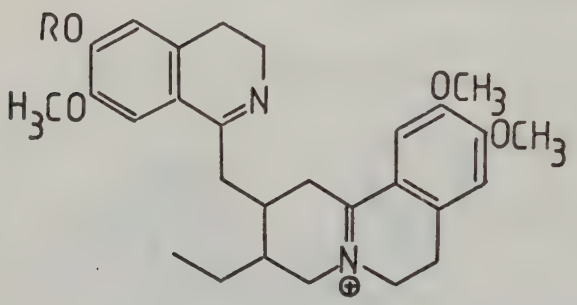
R = CH_3 Emetamin



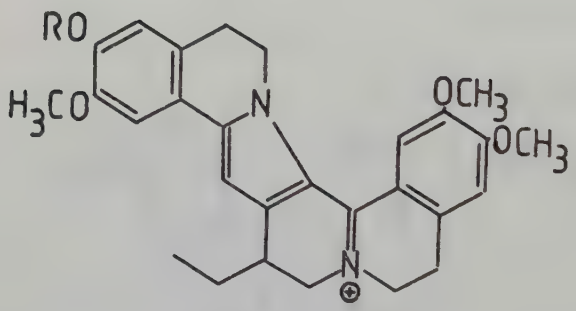
R = CH_3 O-Methylpsychotrin



R = CH_3 Didehydroemetin

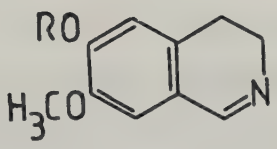


R = CH_3 Tetradehydroemetin

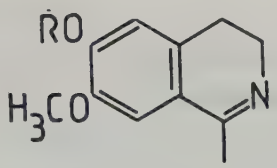


R = CH_3 Rubremetin

Fragmente (bei der Zersetzung am Licht)



R = CH_3 3,4-Dihydro-6,7-dimethoxy-isochinolin



R = CH_3 1-Methyl-3,4-dihydro-6,7-dimethoxy-isochinolin

SCHUIJT konnte der Reihenfolge des Auftretens der Zersetzungsprodukte im DC einen bestimmten Zersetzungsgrad der Lösung zuordnen:

a) Thermische Zersetzung:

1 % Z.	Didehydroemetin sichtbar
3 % Z.	O-MP
10 % Z.	Tetradehydroemetin
12 % Z.	Rubremetin
14 % Z.	Emetamin

b) Photochemische Zersetzung:

1 % Z.	Didehydroemetin
3 % Z.	O-MP
5 % Z.	Fragmente
10 % Z.	Dimer aus Emetin-Fragmenten
12 % Z.	Tetradehydroemetin
15-20 % Z.	Rubremetin
20 % Z.	Emetamin

Den Zersetzungsprodukten kommt so bei der DC-Analytik von Emetin-Lösungen eine gewisse Indikatorfunktion für den Zersetzungsgrad zu.

Gehaltsbestimmungsmethoden

An Versuchen, den Gehalt an Alkaloiden in Radix Ipecacuanhae oder deren Zubereitungen zu bestimmen, hat es nicht gefehlt. Wenige Bestimmungsmethoden erfüllen aber bestimmte Mindestanforderungen an eine aussagekräftige Analytik:

- Spezifität, d.h. Erfassung von Emetin ohne Begleitalkaloide,
- gute Reproduzierbarkeit,
- schonende Behandlung des Emetins während der Bestimmung (Temperatur !),
- geringer Zeitaufwand.

Hier folgt eine kurze Übersicht der verschiedenen quantitativen Bestimmungsverfahren von Ipecac-Alkaloiden in der Literatur:

SCHAAFSMA (35) bestimmte gravimetrisch Cephaelin in Emetin-HCl. Titrimetrische Verfahren beschrieben AUTER,,OFF (36), GRAF (37) oder LOWDELL (38).
Die quantitative DC finden wir, meist kombiniert mit einer photometrischen Bestimmung der Substanzen nach Ausschaben und Elution, bei GHOSH (39), EL-MASRY (40),

BAYRAKTAR-ALPMEN (18), HABIB (41), MASSA (42), SOBICZEWSKA (43) und SCHUIJT (14).

Die HPLC-Analytik bevorzugten GIMET & FILLOUX (44), VERPOORTE & BAERHEIM SVENDSEN (45), BANNISTER (46) oder PESEZ (34).

Mit dem Begriff "Photometrie" lassen sich die Veröffentlichungen von CORUBOLO (47), GRAF & RÖNSBERG (48), EL-SAYED (49) oder THOMAS (50) umschreiben.

Fluorimetrische Verfahren eignen sich besonders zur Erfassung dieser Alkaloidgruppe,- dies zeigen die Arbeiten von ROUZIOUX & BADINAND (51), DAVIS/DODDs & TOMICH (52), ICHIMURA (53) und SCHUIJT (14).

Gerade die Methode von SCHUIJT soll in dieser Arbeit zur Bestimmung des Emetins in verschiedenen Zubereitungen herangezogen werden,- dabei werden auch ihre Grenzen klar: das Verfahren ist optimal zur Bestimmung des Emetins in einfachen Systemen. Bei komplexen Rezepturen muß die Methode modifiziert werden.

2.Kapitel

Fluorimetrische Emetin-Bestimmung in Tinkturen und Extrakten.

A. Grundlagen der Fluorimetrie.

Die Absorption eines parallelen Strahlenbündels durch eine Lösung ist von der Intensität des eingestrahlten Lichtes unabhängig und wird durch das LAMBERT-BEER-sche Gesetz beschrieben (1):

$$I / I_o = e^{-\mu cd}$$

Da bei der Konzentrationsbestimmung meistens der dekadische Logarithmus verwendet wird, ergibt sich aus (1):

$$- \log I / I_o = \varepsilon \cdot c \cdot d = E \quad \text{oder} \quad c = \frac{E}{\varepsilon \cdot d}$$

I = Intensität des durchgelassenen Lichtes

I_o = Intensität des eingestrahlten Lichtes

ε = Molarer Extinktionskoeffizient = 2.303 μ

c = Konzentration der Probe im Lösungsmittel (Mol/l)

d = Schichtdicke der Lösung (in cm).

Der Meßwert I/I_o wird als Durchlässigkeit D bezeichnet. In der Meßtechnik wird meistens der prozentuale Anteil

der durchgelassenen Strahlung als Prozent Transmission (% T) angegeben.
Der dekadische Logarithmus des Umkehrwertes von D wird als Extinktion E bezeichnet ($E = - \log I/I_0$).
In der Absorptions-Spektrophotometrie werden D oder E als Funktion der Wellenlänge (seltener: Wellenzahl) aufgetragen. Da die Fluoreszenzemission von vorhergehender Absorption der Anregungsstrahlung abhängig ist, ergibt sich die Beziehung (2):

$$Q = I_0 \, (2{,}303 \cdot \varepsilon \cdot c \cdot d) \, \varnothing f$$

I = Intensität der Anregungsstrahlung
Q = Intensität der Fluoreszenzemission
$\varnothing f$ = Quantenausbeute der Fluoreszenz

Die Fluoreszenzintensität ist der Substanzkonzentration direkt proportional und damit sehr einfach auszuwerten.

Unterschied Fluorimetrie - Absorptionsmessung:

Bei der Bestimmung der Fluoreszenzemission ist der Meßwert Q direkt proportional der eingestrahlten Intensität I_0 , während bei der Absorptionsmessung das Verhältnis I/I_0 (= D) bestimmt wird. Dieser Unterschied

erklärt die weitaus höhere Nachweisempfindlichkeit der Fluoreszenzmessung: bei der Absorptionsmessung ist die Empfindlichkeit der Messung durch die Fähigkeit der Meßanordnung begrenzt, zwischen 2 großen, aber oft nur geringfügig verschiedenen Signalen I und I_0 zu unterscheiden. Bei der Fluoreszenzmessung wird die Intensität eines Lichtsignals, der Fluoreszenzemission, gegen Null, d.h. gegen Dunkelheit, gemessen. Diese relative Intensitätsmessung ermöglicht optisch und elektronisch eine weitaus empfindlichere Messanordnung als die Messung des Unterschiedes zweier Lichtsignale. In der Praxis ergeben sich Nachweisgrenzen von 10^{-6} Mol bei der Absorptionsanalyse, während mit Fluorimetern bis zu 10^{-12} Mol erreicht werden können.

Formel (2) setzt voraus, daß die Fluoreszenzintensität Q eine lineare Funktion der Konzentration c ist. Das ist jedoch bei hohen Substanzkonzentrationen nicht mehr der Fall. Um im Linearitätsbereich zu bleiben, sollte man die Maximalkonzentration c_{max}:

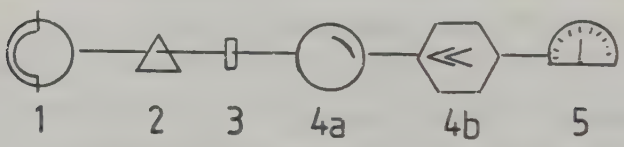
$$c_{max} = \frac{0,05}{\varepsilon \cdot d}$$

nicht überschreiten.
Um auch instrumentell bedingte Nichtlinearitäten (z.B. Photomultiplier-Übersteuerungen) zu vermeiden, ist es

zweckmäßig, auf jeden Fall durch eine Eichreihe den Linearitätsbereich für die zu messende Lösung zu ermitteln.

Die Fluoreszenz des Emetins hat bei der Wellenlänge 318 nm maximale Emission mit Anregungsmaximum bei 284 nm. Für Konzentrationen von 5×10^{-6} M und darunter ist die Beziehung zwischen der Intensität der Fluoreszenz und der Konzentration linear. Aufgrund der RAMAN-Bande bekommt man nur bis zur Konzentration von 10^{-7} M genügende Genauigkeit.

Fluorimeter, schematischer Aufbau:



1 = Lichtquelle (Kontinuumstrahler bei Geräten mit Monochromatoren,- hier: Xe-Lampe).

2 = Monochromator (Gitter)

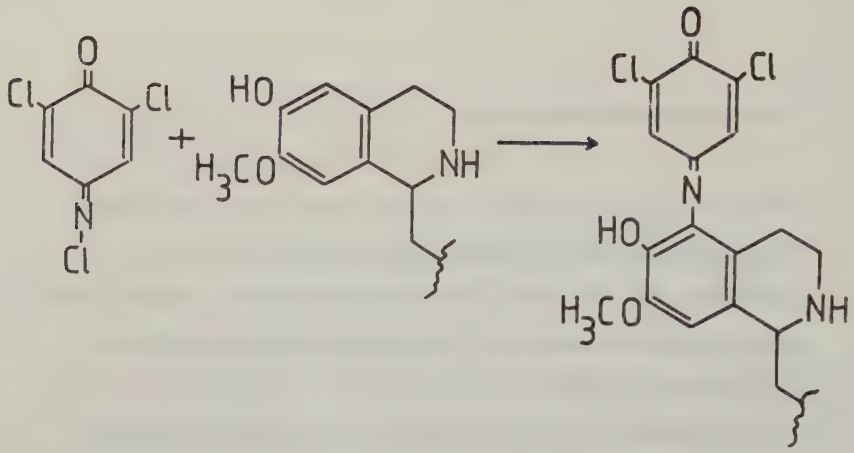
3 = Küvette

4 = Detektor (Photomultiplier)

5 = Meßwertanzeige (Analog oder Digital).

B. Prinzip der Analyse.

SCHUIJT (14) verwendete diese Methode zur Bestimmung des E-Gehaltes in Injektionslösungen, denn sie verbindet Spezifität (Zersetzungsprodukte müssen nicht abgetrennt werden) mit Zeitersparnis und leichter Durchführbarkeit.
Liegen jedoch nicht E-Lösungen, sondern Auszüge mit hohem Cephaelin-Anteil vor, so muß die Methode modifiziert werden, indem der C-Anteil "maskiert" wird (Komplexbildung an der Phenolatgruppe und dadurch Verschiebung des Fluoreszenzmaximums in einen längerwelligen Bereich,- dies ermöglicht wieder die selektive E-Bestimmung). Hierfür griff ich auf die Ergebnisse von GRAF & RÖNSBERG (48) zurück, die nach Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxid die Gesamtalkaloide sowie den C-Gehalt direkt im Chloroformelut bestimmten. C. wird hierbei mit 2,6-Dichlorchinonchlorimid in Gegenwart von wenig methanolischer Kalilauge zum entsprechenden Indophenol umgesetzt, das bei 595 nm photometrisch bestimmt wird:



Durchführung der Analyse:

Angestrebt wird der (lineare) Konzentrationsbereich von 5×10^{-6} M. Dies entspricht ca. 0.3 mg E-HCl in 100 ml. Dazu wird eine Stammlösung hergestellt.

Gerät:

BAIRD ATOMIC Fluoripoint Spectrofluorimeter, Modell EC 100

Eichgerade:

30 mg E-HCl, genau gewogen, werden in einem 100-ml-Meßkolben in Aq. bidest. gelöst und auf 100.0 ml aufgefüllt.

Zur Erstellung einer Eichgeraden werden mit einer EPPENDORF-Pipette (500) jeweils 0.5 / 1.0 / 1.5 / 2.0 ml entnommen und in 4 100-ml-Meßkolben pipettiert. Dazu werden jeweils 1.0 ml Lösung 1 und 2.0 ml Lösung 2 gegeben und danach mit Aq. bidest. auf 100.0 ml aufgefüllt. Vor dem Messen empfiehlt es sich, die Proben für 10 min in einer Eiswanne zu belassen.+

Lösung 1: 0.1 % Lösung von 2,6-Dichlorchinonchlorimid in Methanol.
Lösung 2: 0.05 N-KOH, methanolisch.

a) Bestimmung der Emetin-Werte:
Anregungswellenlänge: 284 nm
Emission:318 nm.
Eichgerade: Der Fluoreszenzwert der höchsten Standardkonzentration wird auf 100 % eingestellt. Aus der so aufgestellten Eichgeraden lassen sich die Werte sofort ablesen.

+ Dies dient zur Vermeidung einer möglichen Überwärmung der Probe im Gerät. Der mit dem Abkühlen verbundene Volumenfehler wird durch durch gleiche Behandlung der Standardlösungen kompensiert.

b) Bestimmung der Cephaelin-Werte:

Die Standardlösungen werden wie bei a) hergestellt: 30 mg, genau gewogen, ad 100.0 mit Aq.bidest., etc.
Anregungswellenlänge: 390 nm
Emission: 450 nm.

Diskussion der Methode.

Die Methode bietet eine Menge Vorteile: Zeitersparnis (Gesamtdauer der Bestimmung ca. 1 h, dabei 0.5 h zum Einbrennen der Xe-Lampe), als Lösungsmittel dient Aq. bidest. (Kunststoffkontakt beim Lagern ist zu vermeiden !), es ist billig, untoxisch und bietet einen optimalen Wellenbereich für die Fluoreszenzspektroskopie.
Keine thermische Belastung der Probe (z.B. kein langsames Abdampfen auf dem Wasserbad), keine Rücksicht auf die Aktivität von Aluminiumoxid nötig, keine unnötige Belastung durch Licht wie bei Verwendung eines Chromatographierohres. Für eine Untersuchung werden nur Teile eines Milliliters benötigt:

Tinkturen: 0.2 ml + Lösungen 1 und 2, dann ad 100.0 ml

auffüllen.
Extrakte: 0.05 ml + Lösungen 1 und 2, dann ad 100.0 ml auffüllen.

Nachteile: Das Verfahren erreicht seine Grenzen, wenn komplexe Rezepturen vorliegen: im Falle der Ipalat c. Cod.- Tropfen finden wir neben den Ipecacuanha-Alkaloiden (Fluidextrakt) noch Ephedrin, Codein (im 20-fachen Überschuß gegenüber Emetin) und 2 aetherische Öle. Lediglich das Ephedrin stört die Bestimmung nicht. Die Öle verfälschen das Ergebnis hochgradig,- die Werte werden zu hoch. Dieses Problem läßt sich durch 3-maliges Ausschütteln der Probe mit n-Pentan lösen.
Schwieriger ist der hohe Codein-Anteil. Versuche, auch diese Substanz durch eine Farbreaktion zu "maskieren", schlugen fehl. Die typischen Codein-Farbreaktionen (MARQUIS, Eisenchlorid, etc.) erfassen auch einen Teil des Emetins. Dazu kommt, daß mit jedem Abtrennungsversuch auch der Fehler größer wird.

Aus diesen Gründen verwendete ich das fluorimetrische Verfahren nur zur Bestimmung von E und C in Extrakten und Tinkturen, denn es erlaubt eine schnelle Beurteilung des Zersetzungsgrades.

Haltbarkeitsprüfungen für Emetin in Tinctura Ipecacuanhae.

Für eine nach DAB 8 hergestellte Tinktur ergaben sich nach Lagerung über 4½ a folgende Verluste an Emetin (bei verschiedenen Lagerungsbedingungen):

Kühl	(8°C)	2 % Verlust
RT	(22°C)	16 % "
35	(35°C)	28 % "
45	(45°C)	45 % "
Li (Fenster)		70 % "

Abkürzungen: Li = Licht, Fensterbank
RT = Raumtemperatur

Die zeitliche Abnahme der E-Konzentration entspricht den Bedingungen einer Reaktion 1.Ordnung am besten. Die gefundenen Werte decken sich mit denen, die mit Hilfe der Ausschabemethode (Kapitel 3) und der Fluoreszenzmessung nach Trennung auf der DC-Platte (s. Kapitel 4-7) gefunden wurden.

In den folgenden Kapiteln werden Untersuchungen verschiedener Rezepturen gezeigt, daneben Stabilitätsstudien und Möglichkeiten zur Verbesserung der Stabilität.

Literatur zur Fluorimetrie: (54 bis 57)

3.Kapitel

Bestimmung durch Ausschaben der DC-Flecke und UV-Spektroskopie (Methode SCHUIJT).

Das Emetin soll mit Hilfe der DC von seinen Zersetzungsprodukten sowie den anderen Rezepturbestandteilen der Hustentropfen abgetrennt werden. Dazu wird eine DC-Platte MERCK Kieselgel GF-254 (MERCK-Nr. 5715) mit folgendem Fließmittel vorelutiert: Tetrachlormethan,Butanol-1,Methanol,Ammoniak 25% (40:30:30:2), danach getrocknet und bei 5°C aufbewahrt.

Mit einer DESAGA-Mikropipette,10 µl,werden für jede Probe dreimal je 6 µl aufgetragen. Emetin-Konzentration 3×10^{-2} M.

Es wird mit der oben angegebenen mobilen Phase entwickelt, das Chromatogramm wird bei Raumtemperatur getrocknet (unter Lichtschutz !). Die Detektion erfolgt unter UV (254 nm),wobei das Emetin als grau-absorbierender Fleck erscheint. Dieser Fleck wird vorsichtig von der Platte abgekratzt und quantitativ in ein Allihn-Rohr überführt (Maße: 15 cm lang,i.D. 1

cm,G4-Fritte).
Elution der Säule mit 4 ml 0.2 N-HCl. Nach 1 Stunde wird die in der Säule verbliebene Flüssigkeit mit Hilfe von Druckluft durch die Fritte gedrückt.
Das Kieselgel wird einmal mit 0.5 ml 0.2 N-HCl durchgespült (Druckluftanwendung sofort nach der HCl-Zugabe), Eluat und Spülflüssigkeit werden vereinigt und zu 5.0 ml mit 0.2 N-HCl aufgefüllt.
Die Absorption dieser Lösung wurde bei 284 nm bestimmt. Hieraus wurde, nach Abzug der Grundlinienabweichung (Kieselgelpartikel !), die Emetin-Konzentration berechnet. Es gilt das Lambert-Beer-sche Gesetz.
Die Abweichung der Grundlinie, die durch die Gegenwart von Kieselgel-Partikeln verursacht wird (was nicht verhindert werden konnte), erforderte eine Korrektur durch Multiplikation des Meßwertes bei 330 nm mit dem Faktor 1.4 (!). Diesen Wert erhält man mit Hilfe von Kieselgel-Blindproben, die in der gleichen Art behandelt werden.
Die Wellenlänge von 330 nm wurde gewählt, weil sich hier kein Unterschied in der durchschnittlichen Streuung bei den Blindproben und den Prüflösungen ergab,- selbst bei hohen Zersetzungsgraden.

Geräte:

ZEISS PMQ II / M40 III

Perkin Elmer 550 s UV/VIS-Spectrophotometer.

Diskussion

Die vorgestellte Methode von SCHUIJT (14) bietet gute Möglichkeiten, um selektiv und spezifisch Emetin in komplexen Gemischen zu erfassen. Durch die DC-Trennung der Komponenten entfallen aufwendige Vortrennungen, jedoch ist das Verfahren immer noch recht arbeitsintensiv und besonders das Ausschaben der Zonen bietet Raum für manche Fehlermöglichkeiten. Darum soll in den folgenden Kapiteln ein Verfahren entwickelt werden, um Emetin direkt auf der Platte durch seine Fluoreszenz nach Besprühen zu bestimmen.

Optimierung der Fließmittel:

Fließgemische (V/V):

1. Chloroform 80
   Methanol 20

2. Chloroform 80
   Methanol 20
   Ammoniak 25% 2

3. Ethylacetat 85
   Methanol 10
   Ammoniak 25% 5

4. Benzol 60
   Methanol 40
   Ammoniak 25% 2

5. Chloroform 20
   Methanol 80
   Ammoniak 25% 2

6. Benzol 90
   Methanol 6
   Ammoniak 25% 1

7. Chloroform 90
   Methanol 10
   Ammoniak 25% 2

Ergebnisse:

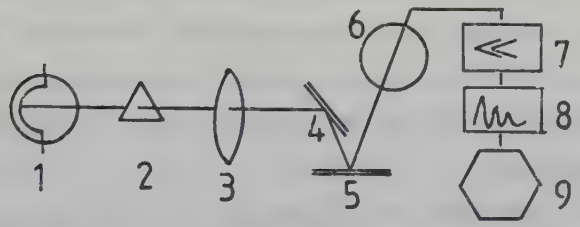
Nach der Trennschärfe und Flecksymmetrie bewertet, sind nur Gemisch 2 und 4 ausreichend gut. In den folgenden Untersuchungen verwende ich daher Fließgemisch Nr.2. (Rf-Wert f. Emetin 0.85 bei Laufstrecke von 14 cm).

4.Kapitel

A. Fluorimetrische Bestimmung des Emetin- und des Tetradehydroemetin-Gehaltes in verschiedenen Ipecacuanha-Extrakten.

Methode:
Emetin wird von den Begleitalkaloiden sowie von seinen Zersetzungsprodukten abgetrennt (Dünnschichtchromatographie), und nach dem Besprühen der getrockneten Platte mit Iod/Chloroform (0.5 g Iod in 100 ml Chloroform) wird die Fluoreszenzintensität bestimmt. Da die Linearität der Beziehung zwischen Konzentration und Fluoreszenz im Bereich bis ca. 70 mg/100 ml gegeben ist(s.Abb.), wird verdünnt.

Gerät:



1. Lichtquelle (Wasserstoff/Wolfram-Lampe)
2. Monochromator
3. Linsensystem
4. Umlenkspiegel
5. Meßobjekt
6. Photomultiplier
7. Verstärker
8. Schreiber
9. Integrator

Verdünnung:

5.00 ml Extrakt werden in einen 100-ml-Meßkolben pipettiert und dann auf 100.0 ml mit Ethanol 45 % (V/V) aufgefüllt. Bei einem Gehalt von 1.8 % Gesamtalkaloiden, berechnet als Emetin (= Arzneibuchforderung Ergb.6) entspricht dies 90 mg GA/100 ml.
Die Emetin-Standardlösungen werden durch Auflösen von exakt abgewogenen Emetinmengen mit Ethanol 45 % (V/V) ad 100.00. hergestellt. Als Einwaage empfiehlt es sich, Mengen von 30,40,50 und 60 mg zu verwenden. (Eichgerade).
Die TD-Emetin-Standardlösungen erhält man durch Einwaagen von 3,5,7 und 10 mg TDE in 100-ml-Meßkolben,

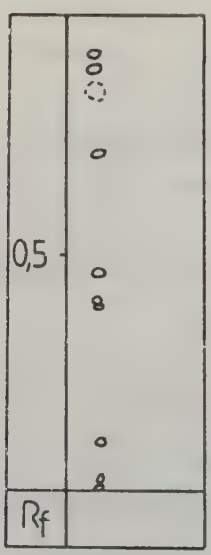
die mit Ethanol 45 % (V/V) ad 100.0 aufgefüllt werden.

Dünnschichtchromatographie:
Arbeitsbedingungen

1. Standardmethode (STAHL), Einfachentwicklung, 14 cm, Relative Feuchtigkeit 50 %, Temperatur 22°C, Kammersättigung.
2. Schicht (stationäre Phase): DC-Fertigplatten MERCK Kieselgel 60 F-254 (MERCK Nr. 5715).
3. Fließmittel (mobile Phase): Chloroform-Methanol-Ammoniak 25 % (80:20:2), 1 x 14 cm, Kammersättigung !
4. Detektion: Iod-Chloroformlösung, anschließend 10 min auf 60°C erhitzen.
5. Aufgetragen werden jeweils 3 µl der Prüf-und Standardlösungen mit Hilfe einer DESAGA-Mikropipette oder einer HAMILTON-Spritze.
6. Standards:
   a) Emetin-HCl (MERCK-Kat.Nr. 3132), chromatographisch rein.
   b) TD-Emetin-HCL, synthetisiert nach BATTERSBY & OPENSHAW (59) durch Dehydrierung von Emetin-HCl, chromatographisch rein. Da sich die Substanz unter Licht-u. Lufteinfluß rasch zersetzt, mußte sie frisch

dargestellt werden.

DC-Bild der Trennung:



Rf	Substanz
0,92	Emetamin
0,89	O-MP
0,86	Emetin (gelb nach Sprühen)
0,72	Cephaelin
0,45	TD-E
0,40	Psychotrin
0,38	Rubremetin
0,11	DD-E

Fluorimetrische Bestimmung:

Die zu vermessende Platte wird auf den elektrisch angetriebenen Schlitten eines Kreuztisches gelegt und mit konstanter Geschwindigkeit, parallel oder senkrecht zur Fließrichtung, an dem Lichtstrahl einer Wolframlampe mit der Wellenlänge 530 nm (für Emetin, auf der besprühten Platte), bzw. 440 nm (für TD-Emetin,

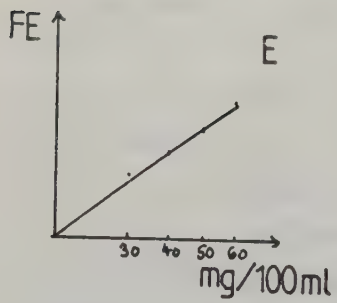
unbesprühte Platte) vorbeibewegt. Über einen Umlenkspiegel und ein Linsensystem wird der Lichtstrahl auf der DC-Platte ausgerichtet. Zwischen Linsensystem und Monochromator wird der Lichtstrahl rechteckig durch Spaltblenden mit maximaler Breite 2 mm und maximaler Höhe 12 mm begrenzt. Hierbei ist die fest eingebaute Irisblende ganz zu öffnen. Als Monochromator und Photometer dient ein PM Q II der Firma ZEISS, das mit den anderen Geräteteilen auf einer optischen Bank verbunden ist.

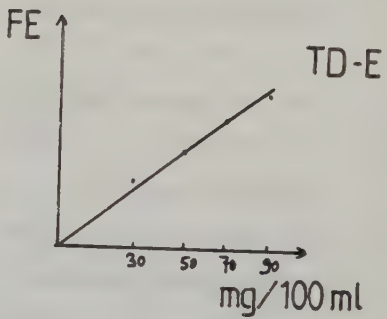
Die Intensität der Fluoreszenzstrahlung wird über einen Verstärker von einem Schreiber (Typ "VITATRON") aufgezeichnet, die Flächeneinheiten berechnet ein Integrator (INFOTRONICS CRS 309). Die Verstärker-Schaltung "A/7" entspricht 70-facher Verstärkung der Impulse vom PM Q II. Als Erfahrungswert für die optimale Geschwindigkeit des Papiervorschubes hat sich der Wert 3 cm/min bewährt. Der Meßkopf bewegt sich dabei im Abstand von ca. 1 mm über die DC-Platte. Der Leerwert (Plattenuntergrund) ist für jede Probe neu einzustellen, um geringe Differenzen durch Plattenoberfläche, Lösungsmittel-oder Sprühreagenz-Reste oder evtl. geringe Beschädigungen auszugleichen. Weiterhin wurde, um die Trägheit der Meßgeräteanordnung (Photomultiplier-Verstärker-Schreiber-Integrator) zu

kompensieren, jeweils eine Aufnahme von links nach rechts und zurück vorgenommen und daraus das Mittel gebildet.

ERGEBNISSE:

1. Eichgeraden:





FE = Flächeneinheiten (Integrator)

2A.Proben: (Herstellungsdatum)

Ch.9711 (15.10.82) Fa.PFLEGER

6560 (14.10.77) "

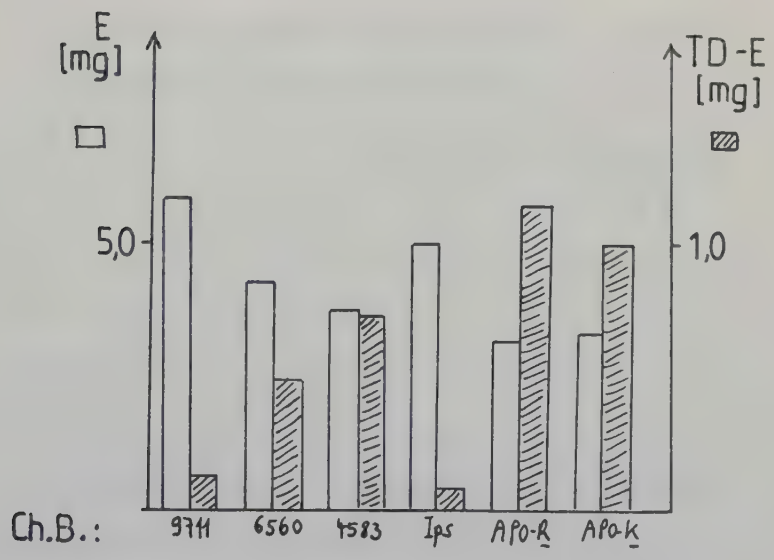
4583 (23.01.75) "

IPS (15.04.81) Eigene Herstellung

APO-R (?) Standgefäß aus Apotheke,Rezeptur

APO-K (?) " " " , Keller

Graphische Darstellung des Emetin- und des TD-Emetin-Gehaltes:



2B. Berechnung des Emetin- und des TD-Emetin-gehaltes der Extrakte:

Ch-Bezeichnung	Datum	mg Emetin	mg TD-Emetin
9711	15.10.82	5.81	0.13
6560	14.10.77	4.28	0.49
4583	23.01.75	3.74	0.72
IPS	15.04.81	4.91	0.08
APO-R	?	3.15	1.14
APO-K	?	3.36	1.01

Wie aus 2. ersichtlich ist, beobachtet man bei Extrakten, die längere Zeit gelagert wurden, eine Abnahme des Emetins und eine Zunahme des Zersetzungsproduktes TD-Emetin.

Stabilisierung.

3. Lagerversuche mit dem Fluidextrakt Ergb.6.

   Dauer: 30 Wochen

   Bedingungen: Kühlschrank, 8°C

   Raumtemperatur, 22°C

   Klimaschrank, 45°C.

   Licht = Fensterbank

SCHUIJT (14) gab als effektivste Stabilisierungsmaßnahmen für Emetin-Injektionslösungen folgende an:

- Begasen mit Inertgas,
- EDTA-Zusatz gg. Schwermetalle, bes. Cu
- pH 3 - 3.5

Die Pharm.Nord. bietet für E-Injektionslösungen ein gutes und stabiles System an, mit pH 3 und 0.01 % Natriumedetat-Zusatz. Schlecht bewährt hat sich das oft anzutreffende Na-bisulfit.

Die Ergebnisse von NÄGLER (1) wiesen auf gute Stabilisatoreigenschaften von Butylhydroxyanisol/Weinsäure, bzw. Natriumedetat/Weinsäure, für Codein hin. Aus diesem Grunde wurden diese Systeme hier auch für die Stabilisierung emetin-haltiger Rezepturen getestet.

A = Ausgangsgehalt, = 4.91 mg E.

B = Kons. mit 0.01 % Butylhydroxyanisol
/0.01 % Weinsäure

C = Kons. mit 0.05 % Na-edetat/ 0.15 % Weinsäure

D = Nicht konserviert, nach 30 W.

Ergebnisse, graphisch:

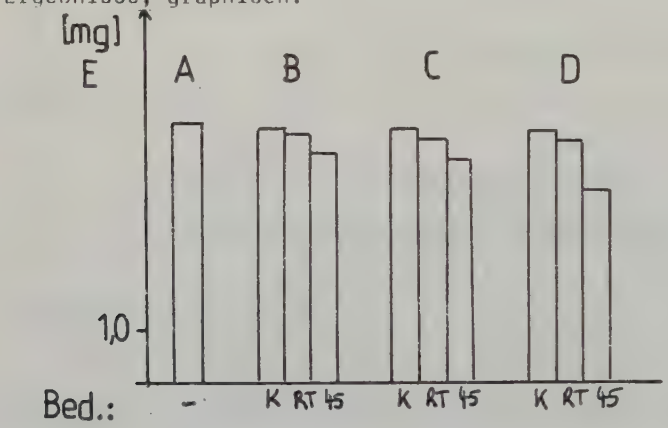


Tabelle:

Nr.	Bed.	mg E	% vom Ausgangswert
B	K	4.82	98.1
	RT	4.72	96.2
	45	4.38	89.3

C	K	4.80	97.7
	RT	4.69	95.7
	45	4.28	87.2
D	K	4.73	96.4
	RT	4.55	92.6
	45	3.64	74.2

4. k-Werte und T-50 (90) %-Zeiten (Tage)

Nr.	Bed.	k	T-50%	T-90%
B	K	0.91	7586	1153
	RT	1.84	3756	571
	45	5.39	1285	195
C	K	1.10	6254	950
	RT	2.09	3311	503
	45	6.52	1062	161
D	K	1.75	3969	603
	RT	3.66	1892	287
	45	14.20	487	74

5. Aktivierungsenergien:

Nr.	T2/T1 (C)	k2/k1	E (kcal/Mol u. kJ/Mol)
B	22/08	1.84/0.91	8.28/34.68
	45/22	5.39/1.84	8.71/36.46
	45/08	5.39/0.91	8.75/36.61
C	22/08	2.09/1.10	7.55/31.61
	45/22	6.52/2.09	9.22/38.6
	45/08	6.52/1.10	8.54/35.75
D	22/08	3.66/1.75	8.68/36.34
	45/22	14.20/3.66	10.99/46.0
	45/08	14.20/1.75	10.05/42.06

5. Diskussion der Ergebnisse:

Die beschriebene Methode eignet sich zur quantitativen Emetinerfassung in Extractum Ipecacuanhae fluidum (Frgb. 6). Es wird klar, daß das Hauptalkaloid Emetin nicht stabil ist und abhängig von Aufbewahrungszeitraum und -bedingungen (Apothekenrezeptur !) große Wertminderungen erfahren kann. Die erhaltenen Ergebnisse lassen sich leider nicht alle miteinander vergleichen, da die Herkunft der Droge die Qualität und damit den Gehalt des Extraktes wesentlich beeinflußt. Meist handelt es sich bei den von der Industrie verarbeiteten Extrakten um die emetinreichere Rio-Ware (3) mit einem Emetin-Cephaelin-Verhältnis von 2:1 oder 3:1. Bei der im Handel befindlichen Droge Ipecacuanhae Radix findet man aber meist nur ein E/C-Verhältnis von 1:1. Diese Extrakte entsprechen wohl der Arzneibuchforderung nach einem Gesamtalkaloidgehalt von 1.8 %, sind aber den Rio-Extrakten qualitätsmäßig unterlegen, da die eigentliche pharmakologische Wirkung dem Emetin zukommt. Dazu kommt, daß nach den Ergebnissen von FISCHL und SCHLOSSBERGER, GOODMAN und GILMAN, sowie von CLARKE, Cephaelin doppelt so toxisch wie Emetin ist (zit. bei (14)).

5.Kapitel

A. Fluorimetrische Bestimmung des Emetin- und des TD-Emetingehaltes in verschiedenen Ipecacuanha-Tinkturen.

Untersucht wurde hier eine nach der Monographie Ipecacuanha-Tinktur DAB 8 hergestellte und unter verschiedenen Bedingungen gelagerte Tinktur, daneben eine durch Wirbelextraktion nach (61) hergestellte Zubereitung. Um geschlossene Systeme zu schaffen, wurden neben WEPRAL-Flaschen auch Ampullen (Glasart I,Ph.Eur.) verwendet (Zuschmelzen in der Butan/Sauerstoff-Flamme) .
Bestimmt wurden a) der Wirkstoff Emetin
b) das Zersetzungsprodukt TD-Emetin

Methode, vgl. Kap.4

Um im linearen Konzentrationsbereich zu liegen, werden 3.00 ml Tinktur in einen 10- ml-Meßkolben pipettiert und dann auf 10.00 ml mit Ethanol 70 % (V/V)

aufgefüllt. Bei einem Gehalt von 0.2 %
Gesamtalkaloiden, berechnet als Emetin (
Arzneibuchforderung DAB 8: 0.19 bis 0.21 %) entspricht
dies 6 mg GA/10 ml.
Die hier verwendete Tinktur wies einen GA-Gehalt von
0.3 % auf, entsprechend 9 mg GA/10 ml.

Dünnschichtchromatographie und Bestimmung vgl. Kap. 4.

DC-Bild:

vgl. Kap. 4, Extrakte

ERGEBNISSE

Proben und Standards

Proben:

1.Reihe: Perkolat vom 15.04.1981

2.Reihe: Wirbelextrakt vom 10.04.1981

Aufbewahrung: Ampullen (5 ml, Weiß-u. Braunglas, weiß nur für Lichtbelastung) und WEPRAL-Flaschen (100 ml).

Bedingungen: Li = Licht,Fensterbank

45 = Klimaschrank 45°C

RT = Raumtemperatur,22°C

K = Kühlschrank,8°C

Lagerzeit: 30 Wochen

Zusätzlich wurden 2 Tinkturen aus einer Apotheke untersucht:

A1 = aus dem Standgefäß der Rezeptur,

A2 = " " " im Keller

1. Eichgeraden: vgl. S.48

2. Lagerversuche und Stabilisierung von Tinktur 5/81, Ausgangsgehalt 5.68 mg:

Bedingungen: K = Kühlschrank, 8°C
RT = Raumtemperatur, 22°C
45 = Klimaschrank, 45°C

A = Ausgangsgehalt,= 5.68 mg E.
B = Kons. mit 0.01 % Butylhydroxyanisol /0.01 % Weinsäure
C = Kons. mit 0.05 % Na-edetat/0.15 % Weinsäure
D = Nicht konserviert

Ergebnisse der Stabilisierung, graphisch:

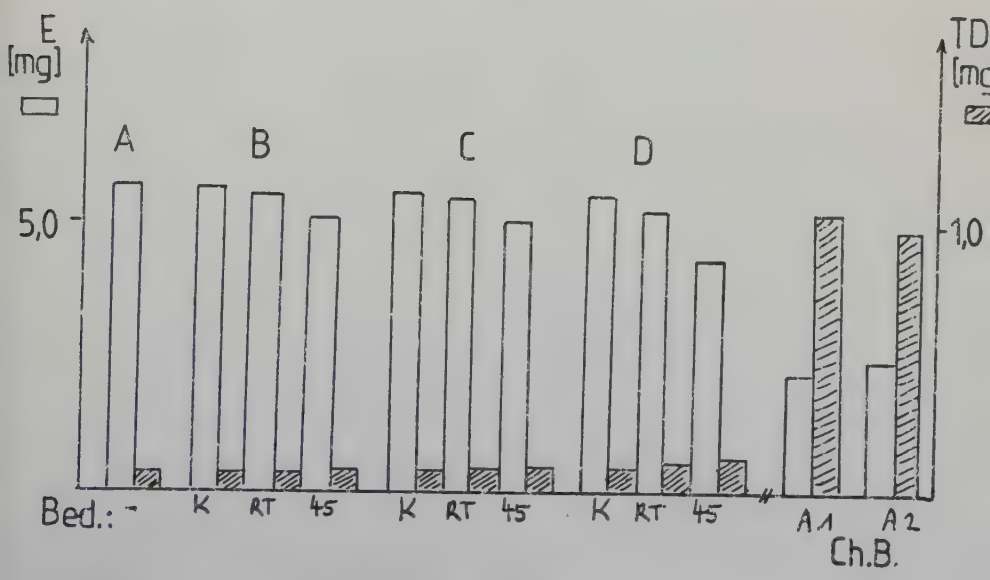


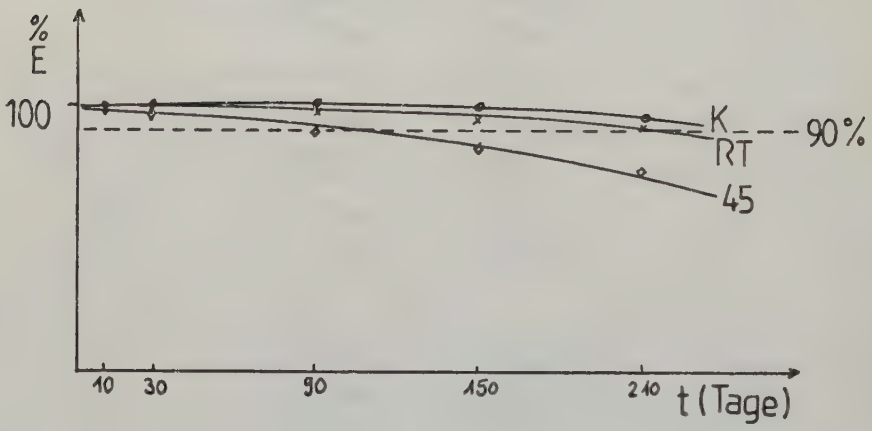
Tabelle:

Bezeichnung		mg Emetin	mg TD-Emetin
B	K	5.60	0.06
	RT	5.50	0.06
	45	5.10	0.07
C	K	5.59	0.06
	RT	5.47	0.07
	45	5.0	0.07
D	K	5.51	0.07
	RT	5.29	0.08
	45	4.37	0.13

3. Zeitliche Abnahme des E-Gehaltes, graphische Darstellung (Perkolat 4/81, unter verschiedenen Lagerungsbedingungen):

Bed.	Tage	mg Emetin	=% vom Ausgangswert
8 C	0	5.68	100
	10	5.68	100
	30	5.67	99.8
	90	5.62	98.9
	150	5.57	98
	210	5.51	97
22 C	0	5.68	100
	10	5.68	100
	30	5.64	99.3
	90	5.53	97.4
	150	5.41	95.2
	210	5.29	93
45 C	0	5.68	100
	10	5.63	99.1
	30	5.49	96.7
	90	5.09	89.6
	150	4.72	83.1
	210	4.37	76.9

Graphik: Abnahme unter verschiedenen Temperaturen.



4. k-Werte und T-50 (90) %-Zeiten (Tage):

Nr.	Bed.	k	T-50%	T-90%
B	K	0.68	10259	1560
	RT	1.53	4519	687
	45	5.13	1352	205
C	K	0.76	9111	1385
	RT	1.80	3860	587
	45	6.07	1142	174
D	K	1.45	4789	728
	RT	3.39	2045	311
	45	12.49	555	84

5.Werte der Aktivierungsenergien:

Nr.	T2/T1 (C)	k2/k1	E(kcal/Mol u. kJ/Mol)
B	22/08	1.55/0.68	9.54/39.94
	45/22	5.12/1.55	9.79/40.98
	45/08	5.12/0.68	9.69/40.55
C	22/08	1.80/0.76	10.14/42.46
	45/22	6.09/1.80	9.88/41.35
	45/08	6.09/0.76	9.99/41.8
D	22/08	3.41/1.45	10.06/42.12
	45/22	12.51/3.41	10.53/44.1
	45/08	12.51/1.45	10.34/43.29

Diskussion der Ergebnisse:

Auch in dieser Untersuchung schnitten die Zubereitungen aus der Apotheke sehr schlecht ab. Leider ließ sich das exakte Alter dieser Zubereitungen nicht mehr feststellen,- es kann jedoch gezeigt werden, daß der Emetingehalt sehr stark abnimmt.

Die Emetinzersetzung ist auch mit einer Farbveränderung verbunden, was am Beispiel der Tinkturen besonders deutlich wird:

kühl gelagert: hellbraun
bei RT " : rötlich-braun
bei 35/45°C : dunkelbraun
bei Licht : intensives Gelb

Auch bei Extrakten, bzw. bei den Ipalat c.Cod.-Tropfen ließ sich eine Verfärbung feststellen, jedoch tritt sie bei den Tinkturen besonders deutlich hervor.

6. Kapitel

A. Fluorimetrische Untersuchung emetinhaltiger Hustentropfen.

Zur Untersuchung liegen Ipalat cum Codein-Tropfen der Fa. PFLEGER (Bamberg) aus 9 verschiedenen Chargen vor, 2 Proben davon stammen als "Pharma-Müll" aus Hausapotheken.

Zur Zusammensetzung des Fertigarzneimittels: s.S.1

Seit dem 1.4.1981 wird durch den Zusatz von 0.05 % Na-edetat und 0.15 % Weinsäure stabilisiert und pH 6.3 eingestellt.

pH-Vergleich verschiedener Ipalat-Chargen:
Gerät: pH-Meter E 520, METROHM (Herisau)
a) Konserviert:

Ch.B.	Herst.Dat.	pH
2684	25.10.82	6.3
2155	11.03.82	6.3
1574	07.09.81	6.3
1142	01.04.81	6.3

b) Nicht konserviert:

Ch.B.	Herst.Dat.	pH
5843	23.04.76	7.9
5630	28.10.75	7.9
5483	12.06.75	8.1

Die unkonservierten Zubereitungen unterscheiden sich von den konservierten außer im pH-Wert auch durch eine dunklere Farbe und unangenehm bitteren Geschmack.

NÄGLER hatte in seiner Dissertation 1981 (1) die Zersetzung des Codeins in diesem Arzneimittel untersucht: Die über den Ipecacuanha-Fluidextrakt eingeschleppten Schwermetalle vermindern stark die Qualität des Systems und sollen durch den Stabilisatorzusatz aus Komplexbildner und Synergist abgefangen werden.
Da sowohl die aetherischen Öle als auch der 20-fache Codeinüberschuß gegenüber Emetin die fluorimetrische Bestimmung der verdünnten Lösung in der Küvette (vgl. Kap.2) ohne vorherige Abtrennung unmöglich machen, ist hier die DC-Trennung mit direkter fluorimetrischer Fleckauswertung auf der Platte das Mittel der Wahl.

Bestimmt werden:

a) der Wirkstoff Emetin (nach Besprühen der Platte und Entwickeln bei 60°C im Trockenschrank), hRf=0.8, λ =530 nm.

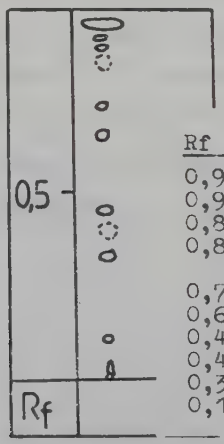
b) Das Zersetzungsprodukt TD-Emetin (vor dem Besprühen der Platte), hRf=0.45, λ =440 nm.

Dünnschichtchromatographie:

Arbeitsbedingungen, vgl. Kap.4

Auftrag: es genügt, mit einer Mikropipette 3 µl der unverdünnten Tropfen aufzutragen. Damit liegt der zu erwartende E-Anteil genau im linearen Konzentrationsbereich, (Die Zubereitung enthält 4.1 g Fluidextrakt Ergb.6: Gesamtalkaloid-Gehalt 1.8 %. Dies entspricht 72 mg Gesamtalkaloid/ 100 ml Zubereitung).

DC-Bild der Trennung:

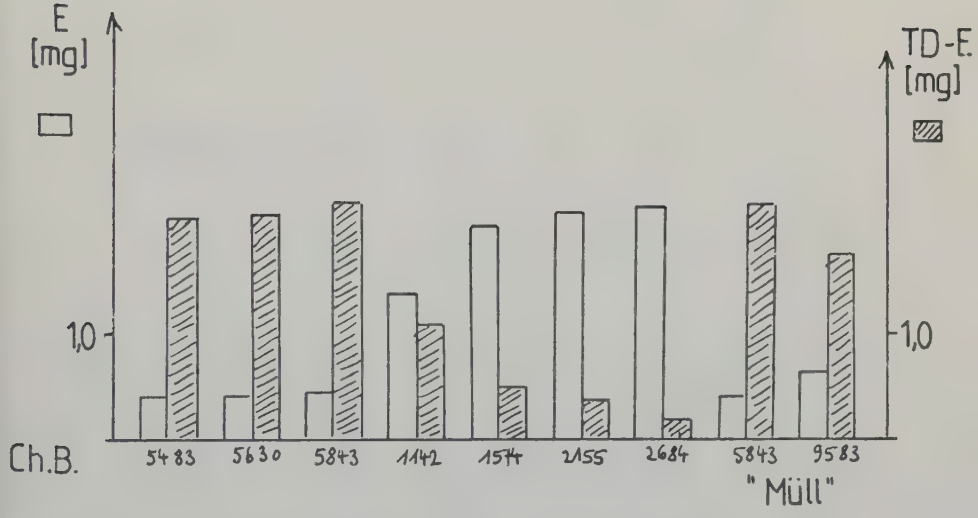


Rf	Substanz
0,95	aether. Öle
0,92	Emetamin
0,89	O-MP
0,86	Emetin (gelb nach Sprühen)
0,74	Cephaelin
0,66	Codein
0,45	TD-Emetin
0,40	Ephedrin (UV 365 nm)
0,39	Rubremetin
0,11	DD-Emetin

Eichgeraden für Emetin und TD-Emetin: vgl. S.48

ERGEBNISSE

1. Graphisch:



2. Rechnerisch:

Ch.B.	Dat.	mg Emetin	mg TD-Emetin
5483	12.06.75	0.84	2.06
5630	28.10.75	0.84	2.08
5843	23.04.76	0.88	2.21
1142	01.04.81	2.78	1.02
1574	07.09.81	4.03	0.50
2155	11.03.82	4.27	0.36
2684	25.10.82	4.33	0.16
5843	23.04.76	0.84	2.24
9583	06.09.79	1.24	1.74

Die beiden letzten Proben stammen aus Haushaltsmüll und sind verkrustet.

Eigene Lagerversuche mit Ipalat-Tropfen.

(Dauer: 30 Wochen)

Bedingungen: Kühlschrank, 8°C

Raumtemperatur, 22°C

Klimaschrank, 45°C

A = Ausgangsgehalt = 5.80 mg Emetin

B = Kons. mit 0.01 % Butylhydroxyanisol /0.01 % Weinsäure

C = Kons. mit 0.05 % Natrium-edetat/0.15 % Weinsäure

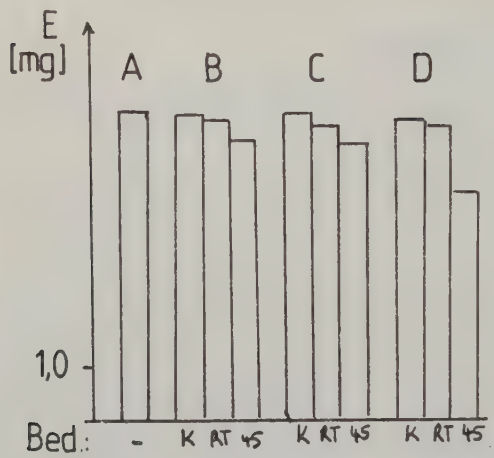
D = Nicht konserviert

Ergebnisse:

3. k-Werte und T-50 (90)%-Zeiten (Tage):

Nr.	Bed.	mg Emetin	k	T-50%	T-90%
B	K	5.75	0.41	16808	2555
	RT	5.67	1.08	6419	976
	45	5.21	5.11	1356	206
C	K	5.73	0.58	11985	1822
	RT	5.65	1.25	5554	844
	45	5.19	5.29	1310	200
D	K	5.67	1.08	6420	976
	RT	5.51	2.44	2838	432
	45	4.26	14.70	472	72

4. Abnahme, graphisch:



5. Aktivierungsenergien:

Nr.	T2/T1 (C)	k2/k1	E (kcal/Mol u. kJ/Mol)
B	22/08	1.08/0.41	11.4/47.7
	45/22	5.11/1.08	12.6/52.7
	45/08	5.11/0.41	12.1/50.7
C	22/08	1.25/0.58	9.0/37.8
	45/22	5.29/1.25	11.7/48.9
	45/08	5.29/0.58	10.6/44.4

D	22/08	2.44/1.08	9.6/40.1
	45/22	14.70/2.44	14.6/52.4
	45/08	14.70/1.08	12.5/52.4

Diskussion

Mit der quantitativen DC hat der Analytiker die Möglichkeit, den Grad der Zersetzung auf 2 Wegen zu beurteilen:
a. Als Abnahme des Hauptalkaloids Emetin,
b. Als Zunahme eines wichtigen Zersetzungsproduktes, hier TD-Emetin.

Die Bestimmungen sind leicht durchführbar, und es werden viele Fehlermöglichkeiten vermieden, die eine Vortrennung (Abtrennung des Codeins und der aetherischen Öle) mit sich bringen würde.
Da die Rezepturen mit verschiedenen Fluidextrakten hergestellt und nicht auf einen bestimmten Emetin-Gehalt eingestellt wurden, läßt sich hieraus auch kein Rückschluß auf die zeitliche Abnahme gewinnen.

7.Kapitel

Untersuchung verschiedener Ipecacuanha-Emetika aus Arztpraxen.

Rp. Extract. Ipecacuanhae fld.		7.0
Glyceroli		10.0
Sir. Simplex	ad	100.0

Angeregt durch einen Kinderarzt aus Tübingen, untersuchte ich 5 verschiedene Proben auf den Emetin- und den Tetradehydroemetin-Gehalt:
Vor dem DC-Auftrag werden die Zubereitungen verdünnt, indem 5,00 ml in einen 10-ml-Meßkolben pipettiert werden und mit Methanol auf 10.0 aufgefüllt wird.
Auch die Standard-Substanzen werden für diese Reihe in Methanol gelöst.

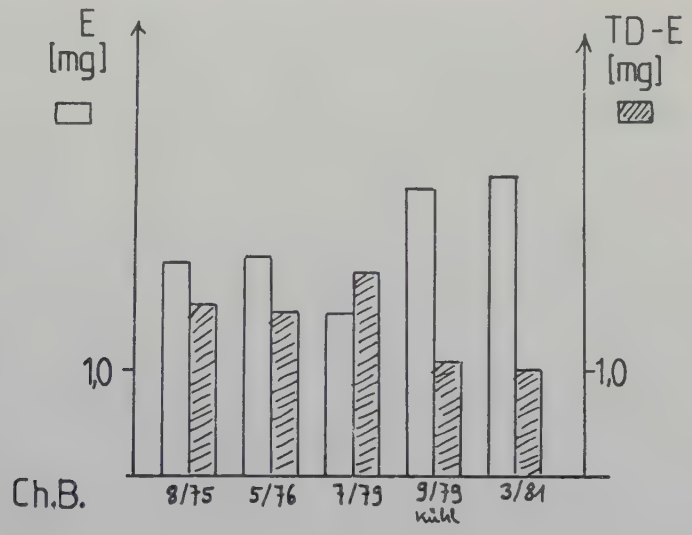
ERGEBNISSE

Bestimmung des Emetins:

Herst.Dat.	mg Emetin	mg TD-Emetin
15.08.75	1.98	1.64
23.05.76	2.04	1.56
17.07.79	1.50	1.88
04.09.79	2.72	1.08
27.03.81	2.84	1.02

Theoretischer Gehalt: 6.3 mg Gesamtalkaloid, ber. als Emetin.

Graphisch:



Es zeigt sich deutlich die Zunahme des Zersetzungsproduktes Tetradehydro-Emetin und die damit verbundene Abnahme des Wirkstoffes Emetin.

Diskussion:

Aus diesen Ergebnissen wird klar, daß der Diskussionsbeitrag eines Kinderarztes, die Wirkung des Ipecac-Emetikums sei manchmal recht unzuverlässig, seine volle Berechtigung hatte. Als Lagerungstemperatur wurde für 4 Proben "Raumtemperatur" angegeben, nur eine war im Kühlschrank. Gerade letztere zeigt ein deutlich besseres Resultat.

Bemerkungen zu den Lagerversuchen.

A. Allgemein

Die Anforderungen an die Haltbarkeit von Arzneimitteln sind seit ca. 20 Jahren im Ansteigen.
Zwar finden wir im Deutschen und im Europäischen Arzneibuch zahlreiche Bestimmungen zur Erhaltung der Stabilität von Arzneistoffen und Arzneizubereitungen, jedoch gibt es über diese Einzelvorschriften hinaus keine Rahmenmonographie "Arzneimittel-Stabilität". Arzneibücher wie die Pharm.Helv. VI, die USP XIX oder das DAB 7-DDR befassen sich bereits mit Fragen der Aufbewahrung und Stabilisierung von Arzneimitteln.

Ein Arzneimittel ist lt. Pharm.Helv. VI stabil, "wenn sich seine wichtigen Eigenschaften eine angemessene Zeit nicht oder lediglich in einem zulässigen Ausmaße verändern; dabei ist vorauszusetzen, daß die vorgeschriebenen oder zweckmäßigen Aufbewahrungsbedingungen hinsichtlich Temperatur, Feuchtigkeit und Licht eingehalten werden und auch ein geeigneter Behälter verwendet wird."
Eine Stabilisierung umfaßt physikalische, physikalisch-chemische, chemische und/oder antimikrobielle Maßnahmen.

Stabilisatoren sind Hilfsstoffe, welche die Stabilität eines Arzneimittels verbessern oder sicherstellen,- sie sind in solchen noch wirksamen Konzentrationen anzuwenden, daß sie weder pharmakologisch stören noch toxisch wirken. Sie dürfen die wichtigen Eigenschaften des Arzneimittels nicht verändern.

Die "Grundregeln der WHO (GMP) für die Herstellung von Arzneimitteln und die Sicherung ihrer Qualität" (— veröffentlicht in der revidierten Form vom 1.12.1977 im Bundesanzeiger Nr.1 vom 3.1.1978) definieren Haltbarkeit als:

" Konstanz des Wirkstoffgehalts und des galenischen Zustandes einer Arzneispezialität in der Verpackung, unter definierten Bedingungen über einen bestimmten Zeitraum. Die Konstanz des Wirkstoffgehaltes bedeutet, daß der mit spezifischen Analysenmethoden ermittelte Wirkstoffgehalt nicht unter 90 % der Deklaration absinkt".

§ 10 Abs. 7 des AMG 1978 verpflichtet zur Angabe eines Verfallsdatums,- mit einer Ausnahme:
" Die Angabe eines Verfallsdatums kann entfallen, wenn die Dauer der Haltbarkeit mehr als 3 Jahre beträgt."

Angaben zu den zugelassenen Antioxidantien, Synergisten und Metallkomplexbildnern bietet das Deutsche Lebensmittelrecht, insbesondere:

1. das Bundesgesetzblatt vom 23.12.77 mit der "Verordnung über das Inverkehrbringen von Zusatzstoffen und einzelnen wie Zusatzstoffe verwendeten Lebensmitteln" (= Zusatzstoff-Verkehrs-VO).

2. an gleicher Stelle: "Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen zu Lebensmitteln" (= Zusatzstoff-Zulassungs-VO), vom Dezember 1977 und in neuer Fassung vom Februar 1980.

B. Berechnungen.

Aus den Stabilitätstests ist zu erkennen, daß die Zersetzung des Emetins als Reaktion 1.Ordnung beschrieben werden kann.
k-Werte:

es gilt: $$\log [C] = -\frac{k}{2{,}303} \cdot t + \log [C_0]$$

oder

$$k = \frac{2{,}303}{t} \log \frac{[C_o]}{[C]} \quad \text{bzw.} \quad k = \frac{1}{t} \ln \frac{[C_o]}{[C]}$$

C = Konzentration von A

C_o = Ausgangskonzentration

k = Reaktionsgeschwindigkeitskonstante (1/t)

t = Reaktionszeit

Die k-Werte wurden mit Hilfe eines BASIC-Programms auf einem APPLE-II-europlus Computer berechnet (s. Anhang).

Aus der 1889 von ARRHENIUS aufgestellten empirischen Gleichung (1)

$$\frac{d \ln k}{dT} = \frac{\Delta E}{RT^2}$$

läßt sich Gleichung (2) ableiten:

$$\ln k = \ln A - \frac{\Delta E}{RT}$$

Für die Temperaturen T und T ergibt sich:

$$\ln k_1 = \ln A - \frac{\Delta E}{RT_1} \quad \text{und} \quad \ln k_2 = \ln A - \frac{\Delta E}{RT_2}$$

Durch Subtraktion der Gleichungen erhält man:

$$\ln \frac{k_1}{k_2} = \frac{\Delta E}{R} \left(\frac{T_2 - T_1}{T_2 T_1} \right)$$

und durch Umformen:

$$\Delta E = \ln \frac{k_2}{k_1} \cdot R \left(\frac{T_2 T_1}{T_2 - T_1} \right)$$

k = Geschwindigkeitskonstante

A = Integrationskonstante, Frequenzfaktor, Häufigkeitsfaktor, Stoßzahl.

ΔE = Aktivierungsenergie (kJ/Mol bzw. kcal/Mol)

R = Molare Gaskonstante (8.317 J/MolK oder 1.987 cal/MolK)

T = Absolute Temperatur (Kelvin)

Auch die Aktivierungsenergien wurden mit Hilfe eines BASIC-Programms auf dem APPLE-Computer berechnet (s. Anhang).

Die Werte von E betragen ca. 10 kcal/Mol oder 42 kJ/Mol.

Literatur zu den Stabilitätsuntersuchungen: (60 bis 67).

Zusammenfassung

In dieser Arbeit werden Möglichkeiten gezeigt,um den Emetingehalt verschiedener oraler Liquida zu bestimmen,die Zubereitungen aus Radix Ipecacuanhae enthalten.
Es wird klar,daß es sich beim Hauptalkaloid Emetin um eine licht-und temperaturempfindliche Substanz handelt, deren Bestimmung hohe Ansprüche an die Spezifität der Analysenmethode stellt. Thema dieser Arbeit war auch, die Stabilität eines Ipecacuanha-Extrakt enthaltenden Arzneimittels durch Zusatz geeigneter Antioxidantien und Komplexbildner zu verbessern. Besonderes Interesse galt dem Emetin,da dieser Substanz die eigentliche therapeutische Wirkung zukommt.

Das untersuchte Fertigarzneimittel hat folgende Zusammensetzung:

Rp.	Extractum Ipecacuanhae fluidum		4,000 g
	Ephedrinum hydrochloricum		1,000 g
	Codeinum		0,750 g
	Oleum Anisi		0,240 g
	Oleum Foeniculi		0,160 g
	Spiritus 95 %		44,400 g
	Aqua purificata	ad	100,000 g

Seit 1981 ist das Präparat mit 50 mg Dinatriumedetat und 150 mg Weinsäure stabilisiert, da das enthaltene Codein leicht zum N-Oxid umgesetzt wurde.

Die Bestimmung des Emetingehaltes in Extrakten oder Tinkturen kann durch quantitative fluorimetrische Bestimmung auf einem BAIRD ATOMIC-Fluorimeter erfolgen. Als der genaueste Meßbereich wurden 3×10^{-6} Mol Emetin ermittelt. Die Methode wurde optimiert und erlaubt - durch eine Farbreaktion nach GRAF-RÖNSBERG - die getrennte Bestimmung von Emetin und Cephaelin bei zwei verschiedenen Wellenlängen.
Liegen jedoch in der Zubereitung aetherische Öle oder (wie im Falle der Ipalat c. Cod.-Tropfen) ein 20-facher Codeinüberschuß gegenüber Emetin vor, so versagt diese Methode.
Um Fehler durch aufwendige Vortrennungen zu vermeiden, wurde quantitativ dünnschichtchromatographiert mit anschließender Bestimmung des Emetins und eines charakteristischen Zersetzungsproduktes (TDE) direkt auf der Platte.

Aus den gealterten Präparaten konnten mehrere Abbauprodukte des Emetins isoliert werden,wobei diese Ergebnisse die Arbeiten von SCHUIJT voll bestätigen.

NÄGLER wies auf den Schwermetallgehalt des Extraktes hin und prüfte den Einfluß der Metalle auf die Haltbarkeit. Er stabilisierte die Zubereitung durch Zusatz von Butylhydroxyanisol,- einer Substanz, die heute wegen der geltenden lebensmittelrechtlichen Bestimmungen hier nicht verwendet werden kann. Zur Stabilisierung wurde neben dem System Butylhydroxyanisol/Weinsäure eine Kombination des Metallkomplex-Bildners Na-edetat mit dem Synergisten Weinsäure geprüft. Die Stabilisatoren wurden nach ihren kinetischen Daten,den berechneten Haltbarkeitszeiten und nach den Ergebnissen der Referenzproben beurteilt.

Es zeigte sich, daß durch Zumischung von 0.05 % Na-EDTA und 0.15 % Weinsäure eine genügend lange Haltbarkeit des Hauptalkaloids Emetin erreicht wird. Da dieses Stabilisator-System auch den Codein-Abbau wirksam verzögert, sind die kritischen Punkte in dieser Rezeptur unter Kontrolle.

Weiterhin wurde die Methode eingesetzt zur Qualitätskontrolle verschiedener Ipecacuanha-Extrakte und Tinkturen aus Apotheken,zur Überprüfung der Wirksamkeit zweier Brechsirupe für Kinder (aus einer Arztpraxis).

LITERATURVERZEICHNIS

(1) Nägler,H.J.: Dissertation Tübingen 1981

(2) Ergänzungsbuch zum Deutschen Arzneibuch, 6.Ausg., S.141, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart (1953)

(3) Böhme,H./Hartke,K.: Deutsches Arzneibuch 8.Ausg., Kommentar, S.422, Wissenschaftliche Verlagsges.mbH Stuttgart (1981)

(4) Hummel,K.: Herkunft und Geschichte der pflanzlichen Drogen, S. 95, Wiss.Verlagsges. mbH, Stuttgart (1957)

(5) Steinegger,E./Hänsel,R.: Lehrbuch der Pharmakognosie, 3.neub.Aufl., S.333, Springer Verlag Berlin - Heidelberg - New York (1972)

(6) Homöopathisches Arzneibuch (HAB 1), 1.Nachtrag 1981, Amtliche Ausgabe, S.53, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart

(7) Mahran,G.H./Hilal,S.H./El-Alfy,T.S.: Planta Med. 27, 127 (1975)

(8) Budzikiewicz,H. et al.: Tetrahedron (London) 20, 399 (1964)

(9) Moreira,E.A.: Tribuna Farm.(Brasil) 32, 9 (1964)

(10) Robinson,R.: Nature 162, 524 (1948)

(11) Battersby,A.R. et al.: Chem. and Ind. 9, 983 (1957)

(12) Woolfe,E.: Drug Research 8, 14 (1965)

(13) Seguin,E./Koch,M./Chenn,E./Hayat,M.: Helv.Chim.Acta 63, 1335 (1980)

(14) Schuijt,C.: Dissertation NL-Haarlem 1978,- Analyst 102, 298 (1977), sowie Pharm.Weekbl. 112, 1125 (1977) und ibid. 114, 186 (1979)

(15) Büchi,J.: Pharm.Acta Helv. 7, 227 (1932)
und ibid. 9, 184 (1934)

(16) Bauer,H./Heber,P.: Pharm.Z.H. 71, 513 (1930)

(17) Schirm,M.: Arch.Pharm. 287, 49 (1954)

(18) Bayraktar-Alpmen,G.: Eczacilik Bult. 13, 1 (1971)
(ref. C.A. 75, 67447t (1971)

(19) Lowdell,D.P.: Pharm.J. 156, 141 (1946)
und ibid. 157, 153 (1946)

(20) Evers,N./Smith,W.: Quart.J.Pharm.Pharmacol.
11, 758 (1938)

(21) Hazlett,R.N./McEwen,W.E.: J.Am.Chem.Soc.
73, 2578 (1951)

(22) Auterhoff,H./Dietz,H.: Dtsch.Apoth.Ztg.
97, 233 (1957)

(23) Auterhoff,H./Merz,K.: Arch.Pharm. 63, 326 (1958)

(24) Auterhoff,H./Moll,F.: Arch.Pharm. 63, 555 (1958)

(25) Auterhoff,H./Jacobi,W.: Arch.Pharm. 66, 591 (1961)

(26) Awe,W.: Pharmazie 13, 119 (1958)

(27) Hofstra,R./Rekker,R.F.: Pharm.Weekbl.
93, 417 (1958)

(28) Kaiser,H./Roth,H.J.: Pharmazeutisches
Taschenbuch, 7.Auflage, S.248,
Wiss.Verlagsges.mbH, Stuttgart (1976)

(29) Machovicova,F./Parrak,V.: Cesk.farm.
13, 200 (1964)

(30) Stawowczyk,A.: C.A. 63, 12969c (1965)

(31) Nacken,M./Pachaly,P./Zymalkowski,F.: Arch.Pharm.
303, 122 (1970)

(32) Rössner,W./Nußstein,R.: Arzneiformenlehre
und kleines pharmazeutisches Praktikum,
Einführung und Anleitung für Tierärzte, S.83,
Verlag Uni-Druck München (1976)

(33) Schrb. BGA Nr. 7423.2-30 (Dr.Fehr, Zentrallaboratorium der Deutschen Apotheker, Eschborn)

(34) Pesez,A.: WHO/PHARM/81.507 - Stability of Pharmaceutical Substances and Simple Methods of Detecting Their Degradation, Part 2, S.30 (1981)

(35) Schaafsma,J.: Pharm.Weekbl. 86, 331 (1951)

(36) Auterhoff,H.: Dtsch.Apoth.Ztg. 97, 233 (1957)

(37) Graf,E.: Dtsch.Apoth.Ztg. 91, 797 (1951)

(38) Lowdell,D.P.: Pharm.J. 161, 124 (1948)

(39) Ghosh,D./Data,D./Bose,P.: J.Chromatogr. 32, 774 (1968)

(40) El-Masry,S./El-Ghazooly,M.G./Omar,A.A.: Sci.Pharm. 48, 330 (1980)

(41) Habib,S./Harkiss,K.J.: Planta Med. 18, 270 (1970)

(42) Massa,S./Gal,F./Susplugas,P./Maestre,G.: Travaux de la Soc. de Pharm. de Montpellier, Fasc.4, 301 (1972)

(43) Sobiczewska,M./Borkowski,B.: Acta Pol.Pharm. 27, 469 (1970)

(44) Gimet,R./Filloux,A.: J.Chromatogr. 177, 333 (1979)

(45) Verpoorte,R./Baerheim Svendsen,A.: J.Chromatogr. 100, 227 (1974) und Pharm.Weekbl. 110, 1021 (1979)

(46) Bannister,S.J./Stevens,J./Musson,D./Sternson, L.A.: J.Chromatogr. 176, 381 (1979)

(47) Corubolo,I./Bican-Fister,T.: Pharmazie 14, 557 (1959)

(48) Graf,E./Rönsberg,W.: Arch.Pharm. 303, 209 (1970) - Dissertation Tübingen 1968

(49) Elsayed,A.H.M./Salam,A.M.A./Salam,A.N.A./ Mohammed,Y.A.: Planta Med. 34, 430 (1978)

(50) Thomas,A.D.: J.Pharm.Pharmacol. 28, 838 (1976)

(51) Rouzioux,J.M./Badinand,A.: J.Europ. de Tox. 4, 509 (1972)

(52) Davis,B./Dodds,M.G./Tomich,E.G.: J.Pharm.Pharmacol. 14, 249 (1962)

(53) Ichimura,Y.: Bunseki Kagaku 10, 623 (1961) - ref.C.A. 56, 1530e (1962)

(54) Ringhardtz,J.: Einführung in die Fluoreszenzspektroskopie, 2.erg.Aufl., Broschüre der Bodenseewerk PERKIN-ELMER & Co GmbH, Heft 4 (1981)

(55) Schwedt,G.: Fluorimetrische Analyse, Methoden und Anwendungen. Verlag Chemie, Weinheim - Deerfield Beach/Fla. - Basel (1981)

(56) Eisenbrand,J.: Fluorimetrie. Wiss. Verlagsges.mbH, Stuttgart (1966)

(57) Wehry,E.L.: Analyt.Chem. 54, 131R (1982) und ibid. 52, 75R (1980)

(58) Weissler,A.: Analyt.Chem. 46, 500R (1974)

(59) Battersby,A.R./Openshaw,H.T.: J.Chem.Soc. Suppl. 1, S 67 (1949)

(60) Grimm,W./Schepky,G.: Stabilitätsprüfung in der Pharmazie, Theorie und Praxis Editio Cantor Aulendorf (1980) (Der Pharmazeutische Betrieb, Bd. 28)

(61) Grimm,W./Schepky,G.: Stabilitätsprüfung pharmazeutischer Zubereitungen, Arbeitsunterlagen für den Fortbildungslehrgang der APV (1981/82), 3.überarb.Aufl.

(62) Thoma,K.: Arzneimittelstabilität Werbe-u. Vertriebsges. Deutscher Apotheker mbH Frankfurt (1978)

(63) Garrett,E.R.: Prediction of Stability in Pharmaceutical Preparations J.Am.Phar.Assoc., 45, 470 (1956)

(64) Hartmann,V./Krummen,K./Schnabel,G./Bethke,H.: Stability Testing Pharm.Ind. 44, 71 (1982)

(65) Terao,M./Aoki,K./Uegi,Y.: A Proposed Method for the Prediction of Stability based on Actual Field Temperatures
Chem.Pharm.Bull. 30 (8), 2971 (1982)

(66) Schumacher,P.: Über eine für die Haltbarkeit von Arzneimitteln maßgebliche Klimaeinteilung
Pharm.Ind. 34, 481 (1972)

(67) Hobl,R.: Stabilitäts-Screening
Acta Pharm.Technol. 21, 27 (1975)

(68) Przybilka,A.: Dtsch.Apoth.Ztg. 104, 1406 (1964)

ANHANG

BASIC-Programm für APPLE-II-europlus zur Berechnung der Stabilitätsparameter:

```
10  HOME
20  PRINT : PRINT : PRINT
22  PRINT "BASIC-PROGRAMM VON M.SCHMIDT"
23  PRINT "7407 ROTTENBURG"
24  PRINT : PRINT
30  PRINT "BERECHNUNG VON K"
31  PRINT "FUER EINE REAKTION 1.ORDNUNG"
40  PRINT : PRINT : PRINT
50  PRINT "EINGABE DER AUSGANGSKONZENTRATION"
60  INPUT A1
70  PRINT "EINGABE DER ENDKONZENTRATION"
80  INPUT A2
90  PRINT "ZEITANGABE IN TAGEN"
100  INPUT T
110 B =  LOG (A1 / A2)
120 C = 1 / T
130 K = B * C
140  PRINT "GESCHWINDIGKEITSKONSTANTE K= ";K;" TAGE^-1."
150  PRINT : PRINT : PRINT
160  PRINT "WEITER MIT T-50% UND T-90% ? (J/N)"
170  INPUT U$
180  IF U$ = "J" THEN 220
190  IF U$ = "N" THEN 900
220  PRINT : PRINT : PRINT
230  PRINT "BERECHNUNG VON T-50% U. T-90%"
240  PRINT : PRINT
245 TH = 0.693 / K
250 A2 = A1 * 0.9
255 AG =  LOG (A1 / A9)
260 AB = 1 / K
265 T9 = AG * AB
270  PRINT "DIE T-50%-ZEIT BETRAEGT ";TH;" TAGE."
275  PRINT "DIE T-90%-ZEIT BETRAEGT ";T9;" TAGE."
280  PRINT : PRINT : PRINT
285 M =  - K / 2.303
290  PRINT "GERADENSTEIGUNG:";M
300  PRINT : PRINT : PRINT
305  PRINT "WEITER MIT E-BERECHNUNG ? (J/N)"
306  INPUT C$
307  IF C$ = "J" THEN 400
308  IF C$ = "N" THEN 900
400  PRINT : PRINT : PRINT
405  PRINT "BERECHNUNG DER AKTIVIERUNGSENERGIE"
```

```
410  PRINT : PRINT : PRINT
415  PRINT "HOEHERE TEMPERATUR ? GRD.CELSIUS"
420  INPUT T2
425  PRINT "TIEFERE TEMPERATUR ? GRD.CELSIUS"
430  INPUT T1
435 X = T2 + 273
440 Y = T1 + 273
445 Z0 = X - Y
450 ZA = X * Y / Z0
455 ZB = ZA * 1.987
460 D = ZB * 4.186
465  PRINT "EINGABE K2"
470  INPUT K2
475  PRINT "EINGABE K1"
480  INPUT K1
485 C0 =  LOG (K2 / K1)
490 D0 = C0 * ZB / 1000
495 E0 = C0 * D / 1000
500  PRINT "E= ";D0;" KCAL/MOL, BZW. ";E0;" KJ/MOL"
510  PRINT : PRINT : PRINT
520  PRINT "NEUE E-BERECHNUNG ? (J/N)"
530  INPUT G$
540  IF G$ = "J" THEN 405
550  IF G$ = "N" THEN 800
800  PRINT "AUFHOEREN ? (J/N)"
801  INPUT B$
802  IF B$ = "J" THEN 1000
803  IF B$ = "N" THEN 10
1000  END
```

Danksagung

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. E. Graf, danke ich sehr für die Anregungen im Verlauf dieser Arbeit und für die Überlassung eines Laborplatzes.

Herrn Dr. H. Bertholdt von der Firma PFLEGER/Bamberg danke ich für die finanzielle und materielle Unterstützung der Arbeit.

Den Herren Dr. Alfermann und Dr. Rothenburger danke ich für wichtige Tips im Umgang mit der quantitativen DC.

Herrn Apotheker F. Cammisar möchte ich für manchen interessanten Hinweis aus der Praxis danken.

Meinen Kollegen im Arbeitskreis danke ich für die gute Zusammenarbeit und das kameradschaftliche "Klima".

LEBENSLAUF

Am 17. August 1957 wurde ich als erstes Kind des Studiendirektors Joachim Konrad Schmidt und seiner Ehefrau Andree, geb. Cabart, in Tübingen geboren. Von 1964 bis 1966 besuchte ich die Grundschule in Rexingen (Krs. Horb), von 1966 bis 1967 die Grundschule in Rottenburg am Neckar. Der Eintritt ins Eugen-Bolz-Gymnasium Rottenburg erfolgte 1967, ich legte dort das Abitur 1976 ab.
Im Wintersemester 1976/77 begann ich an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen mit dem Studium der Pharmazie,- ich bestand im Sommersemester 1978 den Ersten und im Wintersemester 1979/80 den Zweiten Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung.

Nach 6-monatigem Praktikum in der Apotheke am Rupertsberg in St.Georgen/Schwarzwald und weiteren 6 Monaten in der St.Georgs-Apotheke, ebenda bestand ich im April 1981 die Pharmazeutische Prüfung in Stuttgart. Unter der Leitung von Herrn Prof.Dr.E.Graf begann ich im selben Monat am Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie die vorliegende Dissertation, die im Juni 1983 abgeschlossen wurde.
Von April 1981 bis April 1983 war ich als wissenschaftliche Hilfskraft, ab Mai 1983 als wissenschaftlicher Angestellter, am Pharmazeutischen Institut tätig,- zunächst (bis Dezember 1982) in der Dragierabteilung, danach, bis zum Abschluß dieser Arbeit, in der Abteilung "Parenteralia/Ophthalmica".

Am 20. Mai 1983 heiratete ich Frl. Beate Schlenker.

Meine akademischen Lehrer neben

Herrn Professor Dr. E. Graf

waren die Herren Professoren und Dozenten:

Alfermann,A.-W., Ammon,H.P.T., Auterhoff,H.,

Botzenhart,K., Brösamle,O., Hamacher,H., Kovar,K.A.,

Lindner,E., Mechler,E., Nakel,W., Reinhard,E.,

Roth,H.J., Schilcher,H., Schultz,J.E., Verspohl,E.

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (0 74 72) 2 21 45